أمراض النبات العملي

دكتور حسين العروسي دكتور سمير ميخائيل دكتور محمد علي عبد الرحيم

كليـة الزراعة ــ جامعة الاسكندرية

١٩٨٤



دار المطبوعات الجديدة

الفصل السادس
الامراض البكتيرية

BACTERIAL DISEASES

تنتمى البكتيريا الى صف Cl. BACTERIA الذى يتبع قسم Div SCOTOBACTERIA ضمن المملكة Kingdom PROCARYOTAE.

يتبع هذا الصف عدة عائلات تشمل بكتيريا ممرضة للنبات . وأول ما يواجه المشتغلين بأمراض النبات هو عزل وتعريف البكتيريات من العينة المصابة ومن هذه الناحية يمكن تقسيم البكتيريات المسببة لامراض النبات الى مجموعتين :

١ ــ تلك التى تعزل بسهولة من النباتات المريضة وهى الشائعة وتنمو على البيئات القياسية ، وأفراد هذه المجموعة يمكن تمييزها بسهولة ويسر عن بعضها على أساس شكل المستعمرات على بيئات معينة وبعض الاختبارات الاساسية كصبغة جرام والنمو غير الهوائى .

٢ ــ أفراد هذه المجموعة جديدة نسبيا للمشتغلين بأمراض النبات وتعرف طبقا لما يأتى :

(أ) النمو على بيئات معقدة (مثل بيئة السيرم) .

(ب) وجود أو غياب الجدار الخلوى .

(ج) صبغة جرام . (د) النمو غير الهوائى اجباريا .

وبشكل عام لا يمكن التعرف على المرض البكتيرى من الاعراض فقط حيث تتشابه عدة أمراض فى نفس الاعراض ، ولكن يجب أن يصاحب دراسة الاعراض عملية عزل وتعريف البكتيريات ويتبع فى ذلك فروض كوخ

ومن أهم الامراض البكتيرية ما يأتى :

عائــلة ســيدومونية

Fam. pseudomonadaceae

العفن البنى فى البطاطس

Pseudomonas solanacearum

افحص درنات البطاطس المصابة ولاحظ التصـــاق التربة بالدرنات وخاصة جهة الطرف القاعدى وذلك بفعل الافرازات البكتيرية اللزجـــة ، وأحيانا تتلون بعض أجــزاء من قشرة الدرنة بلون بنى رمادى ، وكــذلك تتلون الحزم الوعائية للساق باللون البنى فى النباتات المصابة •

اقطع الدرنة المصابة نصفين ولاحظ تغير لون حلقة الحزم الوعائيــة الى اللون البنى ، وبالضغط على الدرنة تظهر افرازات بيضاء من الحـــزم الوعائية وفى حالة تقدم الاصابة تظهر تجاويف داخل الدرنة بين القشرة والاسطوانة الوعائية •

جهز غشاء بكتيرى من تلك الافرازات وذلك على شريحة زجاجيــة وكذلك حضر غشاء لمشاهدة الحركة ولاحظ أن البكتيريا المسببة عصوية ، سالبة لصبغة جرام ، والسلالات المرضة غير متحركة أما السلالات غير المرضة فهى متحركة بأسواط طرفية • ويلاحظ عن نمو تلك البكتيريات على بيئة King's B أنها لا تكون صبغة ضــوئية وتفــرق عن غيرها من جنس سيدوموناس بأنها لا تكون حامض الساليسين وتكونه من اللاكتوز والمـــالتوز •

التعقــد فى الزيتــون

ويسببه أحد الطرز المرضية للبكتيريا *Pseudomonas syringae* والتى كانت تعرف باسم *Pseudomonas savastanoi*

افحص التآكل الموجودة على أفرع الزيتون ، ولاحــظ أن الثاليــل

تختلف فى حجمها فقد تكون صغيرة جدا وقد تصل الى حجم البيضة ، وذات سطح مشقق أو أملس وبها جيوب تحتوى على البكتيريا المسببة للمرض .

افحص المستعمرات النامية على الاجار المغذى ولاحظ أنها مستديرة، مسطحة ، لامعة ، كاملة الحافة ، تفرز لون أخضر لامع فى البيئة .

جهز تحضيرات ميكروسكوبية للبكتيريا المسببة للمرض ولاحظ أنها عصوية قصيرة ، سالبة بصبغة جرام ومتحركة .

عائلة ريزوبيسة

Fam. Rhizobiaceae

التدرن التاجى

مسبب من *Agrobacterium tumefaciens*

تسبب هذه البكتيريات أوراما على جذور وسيقان كثير من النباتات الاقتصادية . افحص الاورام الموجودة على جذور نباتات مصابة أو على سيقانها فى المنطقة القريبة من سطح التربة . لاحظ تفاوت حجم الاورام فقد تكون صغيرة جدا كما قد تصل الى حجم كرة القدم . والاورام عموما طرية على النباتات العشبية وتظهر على الساق والاوراق ولكن على النباتات الخشبية يكون النسيج المصاب طرى أولا ثم يتصلب بعد ذلك وتظهر الاورام فى منطقة التاج .

اعزل المسبب البكتيرى وذلك بأخذ نسيج أبيض اللون من عدة أماكن من الورم ، وتغسل التدرنات عدة مرات بماء معقم ثم يقطع النسيج الى قطع صغيرة ٢×٢×٢ مم فى ماء معقم ، وبعد حوالى ٣٠ دقيقة يجرى التخطيط على بيئة Schroth أو بيئة Kado-Heskett وتحفظ الاطباق على درجة ٣٠°م . لاحظ شكل المستعمرات الصغيرة المستديرة البيضاء اللامعة ذات الحواف الكاملة .

جهز شرائح للبكتيريا المسببة للمرض ولاحظ أنها عصوية قصيرة في سلاسل قصيرة غالبا ، غير متجرثمة وذات غلاف وسالبة لصبغة جرام، هوائية وأنها متحركة بأسواط محيطية (١ـ٤ أسواط) واذا وجد سوط واحد فغالبا يكون جانبيا ونادرا ما يكون طرفيا .

عائلة أنتروباكتيرية

Fam. Enterobacteriaeeae

العفن الطرى في البطاطس

وتسببه *Erwinia carotovora Sub.sp. atroseptica*

تصيب هذه البكتيريا عددا كبيرا من محاصيل الخضر .

افحص الدرنات المصابة ولاحظ ليونة الانسجة وسيولة المحتويات الداخلية وقد يكون العفن مصحوبا برائحة كريهة تشبه رائحة السمك المتعفن .

افحص المستعمرات النامية على الاجار المغذى ولاحظ أنها مستديرة، رمادية اللون لامعة ذات حواف محددة وكاملة .

افحص الشرائح المجهزة للبكتيريا المسببة لهذا المرض ولاحظ أنها عصوية سالبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ذات نهايات مستديرة ، ومتحركة بأسواط محيطية .

اللفحة النارية في الكمثرى

مسببة من *Erwinia amylovora*

افحص نبات الكمثرى المصاب ولاحظ الذبول الفجائى للازهار والاوراق حديثة النمو وتغير لونها الى اللون الاسود مع بقائها معلقة بالفرع . بتقدم الاصابة تموت المهاميز والاغصان وقد تتكون تقرحات

مكان اتصال المهاميز والاغصان بالافرع • قد تصاب الثمار الصغيرة فتتحول الى اللون الاسود ، وفى الجو الرطب الدافىء تخرج من الاجزاء المصابة افرازات لزجة تحتوى على أعداد كبيرة من البكتيريا • ويمكن اجراء اختبار العدوى الصناعية بوخز ثمار الكمثرى الصغيرة بابرة تلقيح ملوثة بالبكتيريا وتحفظ الثمار المعدية تحت درجة حرارة ٢٨°م فى ظروف رطبة ، فتظهر الاصابة بعد ٤ــ٥ أيام من العدوى على هيئة لون بنى حول مكان الوخز مع ظهور نمو بكتيرى •

افحص البكتيريا المسببة للمرض ولاحظ أنها عضوية قصيرة ، سالبة لصبغة جرام ، متحركة بأسواط محيطية •

وقد وجد أن هناك بكتيريات تتبع جنس *Pseudomonas* يمكن أن تحدث الاعراض سابقة الذكر مع وجود فرق واحد عن الاعراض الناتجة من ايرونياأميلوفورا وهو عدم وجود افرازات لزجة على الاجزاء المصابة فى الجو الرطب وعند عدوى الثمار الصيرة لا ينتج عنها لون اسود داكن داخل الثمرة ولكن لون بنى موضعى •

عائلة ستربتوميسيتية

Fam. Streptomycetaceae

الجرب العادى فى البطاطس

مسبب من *Streptomyces scabies*

افحص درنات البطاطس المصابة ولاحظ البثرات البنية الخشنة المضلعة أو غير المنتظمة الشكل ، والتى قد تكون مرتفعة أو منخفضة عن السطح وتتكون من نسيج فلينى مفكك •

افحص المستعمرات النامية على البيئة المغذية ولاحظ أنها مستديرة

جلدية ، ذات لون أصفر أو بنى مصفر مع تكوين صبغة ذائبة فى البيئة ذات لون بنى ذهبى •

جهز تحضيرا ميكروسكوبيا من المستعمرة ولاحظ وجــود هيفــات متفرعة متموجة أو منحنية تتجزأ بجدر عرضية متقاربة الى ســلاسل من الجراثيم •

الفصـل السـابع

الامـراض الفيروسية

VIRUS DISEASES

تورد القمـة فى المـوز

افحص فسيلة مصابة بتورد القمة ولاحظ ما يأتى :

١ ــ صغر حجم الاوراق وتجمعها فى قمة النبات فى شكل حـزمة وسقوط الاوراق السفلى ومن هنا اشتق اسم المرض •

٢ ــ وجود خطوط خضراء داكنة على السطح السفلى لاعناق الاوراق والعروق الوسطية والثانوية •

عرض هذه الاجزاء لضوء الشمس لترى الخطوط الخضراء الداكنة بوضـوح •

٣ ــ الاوراق المصابة تكون مغطاة بمادة شمعية غير موجـودة على الاوراق السليمة •

٤ ــ اصفرار حواف الاوراق وجفافها وتحولها الى اللون الاسود •

٥ ــ سهولة كسر الاوراق المصابة اذا ثنيت قليلا الى الخارج •

تبرقش الطماطم

افحص نباتات طماطم مصابة بالتبرقش ولاحظ الاتى :

١ ــ ظهور بقع خضراء باهتة صفراء مختلطة باللون الاخضر الطبيعى

٢ ــ خشونة ملمس الوريقات حيث تصبح الاجزاء الطبيعيـة اللون فنجانية الشكل وذلك لاختلاف سرعة نمو أجزاء الورقة ، فالاجزاء الباهتة اللون تنمو بسرعة أقل من الاجزاء الطبيعية •

٣ ــ انحناء حواف الوريقات الى أسفل وهى أكثر صلابة من حواف الوريقات السليمة •

٤ ــ فى الاصابات المتقدمة تموت البقع الصفراء وتتحول الى اللون البنى .

تبرقــش القرعيــات

افحص نباتات قرع مصابة بالتبرقش ولاحظ ما يأتى :

١ ــ ظهور أجزاء خضراء داكنة مرتفعة قليــلا عن مستوى ســطح الورقة وأجزاء خضراء فاتحة .

٢ ــ شفافية العروق وبروز أطرافها .

٣ ــ تشوه الاوراق وقد تصبح فصــوصها خيطية نتيجــة لاختزال المساحات الورقية بين العروق .

٤ ــ ظهور تدرنات على الثمار المصابة .

الفصـــل الثــامن

أمـــراض متسببة عن نيماتودا
NEMATODS

١ ـ عائلة هيترودبرية Fam. Heteroderidae

مرض تعقـد الجذور النيماتودى

مسبب من النيماتودا *Meloidogyne spp.*

يصيب هذا المرض كثير من محاصيل الخضر مثل الطماطم والفلفل والباذنجان والبطاطس والفاصوليا واللوبيا والقـرع والبطيخ وغيرها • تنتشر يرقات الطور الثانى فى التربة وتهاجم الجذور • افحـص النباتات المصابة ولاحظ ما يأتى :

١ ـ تقزم النباتات المصـابة •

٢ ـ لون الاوراق أصبح أخضر باهت أو مصفر •

٣ ـ تكوين عقد كثيرة مختلفة الاشكال والاحجام على الجذر الاصلى والجذور الثانوية •

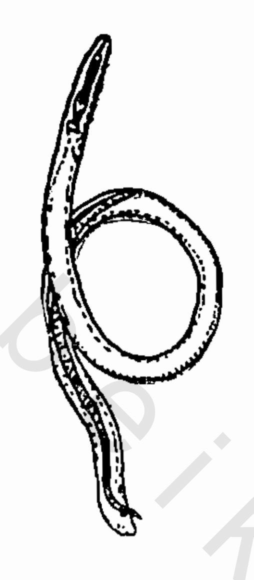
جهز قطاعا عرضيا فى عقدة جذرية وافحصها ميكروسكوبيا ، ولاحظ اناث النيماتودا الكمثرية الشكل التى يتكون فى أسفلها كتلة من البيض فى مادة جيلاتينية وذلك داخل أنسجة الجذر أو على سطحه الخارجى (شكل ٣٠) لاحظ وجود الاطوار المختلفة منها داخل خلايا الجـذر فى منطقـة القشرة والاسطوانة الوعائية مع تكوين خلايا كبيرة الحجم تعرف بالخلايا العملاقة giant cells أو مدمج خلوى syncytia وكذلك تحطيم لبعض الخلايا كنتيجة لنمو النيماتودا والافرازات الناتجة منها •

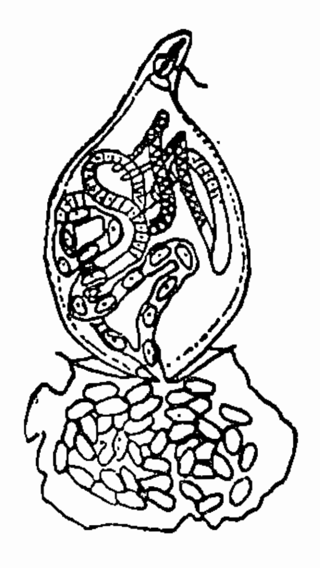
٢ ـ عائلة تيلينكيدية Fam. Tylenchidae

مرض القمح النيماتودى أو التثألل فى القمح

مسبب من النيماتودا *Anguina tritici*

افحـص نباتات قمح مصابة بالتثألل ولاحظ الآتى :





(شكل ٣١) نيماتودا .Meloidogyne sp

لاحظ الأنثى الكمثرية الشكل ويتكون أسفلها كتلة من البيض (يمين) والذكر (يسار)

١ — تقزم النباتات المصابة •

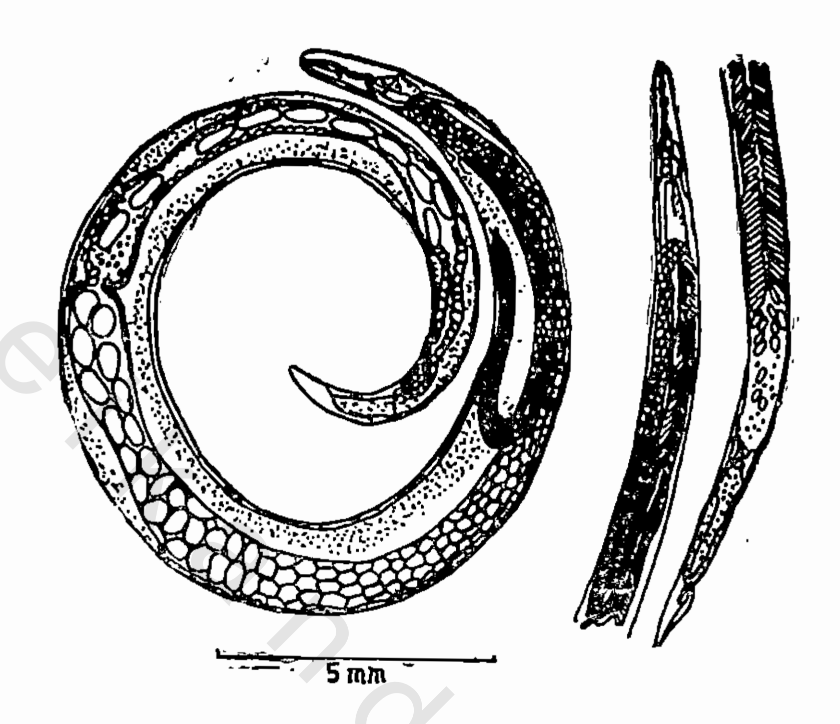
٢ — تجعد والتواء طفيف للاوراق وخاصة فى النباتات الحديثة •

٣ — ضمور السنابل وانفراج قنابعها •

٤ — تكوين أجسام صلبة صعبة الكسر ذات لون بنى محمر تشبه حبوب الدحريج ، وهذه الاجسام أصغر حجما من حبوب القمح وتسمى ثآليل (مفرد ثألول) وذلك بدلا من تكوين حبوب قمح فى السنبلة •

اهرس ثألول فى نقطة ماء على شريحة زجاجية وافحص محتوياته ميكروسكوبيا ولاحظ خروج عدد كبير من يرقات الطور الثانى التى تتحرك فى نقطة الماء ، كما يمكن التمييز بين الاناث والذكور فى السنابل الغضة ، والذكور مستقيمة الشكل والاناث ملتوية وأكبر فى الطول والسمك (شكل ٣١) •

(شكل ٣١) نيماتودا



Anguina tritici

لاحظ الإناث الملتوية الشكل والأكبر حجماً (يسار)
وذكور مستقيمة (يمين) .

الفصـــل التاسـع

النبـاتات الزهـرية المتطفـلة

١ ـ عائلة هالوكية   Fam. Orobanchaeeae

هالوك الفــول   *Orobanche crenata*

افحص نبات هالوك متطفل على جذر نبات فول ولاحظ ما يأتى :

١ ـ الشمراخ الزهرى للهالوك سميك ومتفرع يحمل عددا كبيرا من الازهار المصفرة اللون • الازهار وحيدة التناظر خنثى • يتكون الكاس من أربعة سبلات ملتحمة من أسفل • التويج شفوى يتكون من خمس تبلات ، تبلتان تكونان الشفة العليا وثلاث تكون الشفة السفلى • يتكون الطلع من أربعة أسدية سائبة فوق تبلية ، ويتكون المتـاع من كـربلتين ملتحمتين والمبيض وحيد المسكن • الثمرة علبة تفتح مصراعيا ويتكون بها عدد كبير من البذور • أوراق نبات الهالوك اختزلت الى حراشيف صغيرة لا تحتوى على كلوروفيل •

٢ ـ قاعدة الشمراخ الزهرى متدرنة منتفخة يخرج منها أشباه جذور صغيرة تعمل كممصات تخترق جذور الفول وتلتحم بالحـزم الوعائيـة وتمتص الغذاء المجهز وتعتمد على العائل اعتمادا كليا لغياب الكلوروفيل •

٢ ـ عائـلة حامولية   Fam. Cuscutaceae

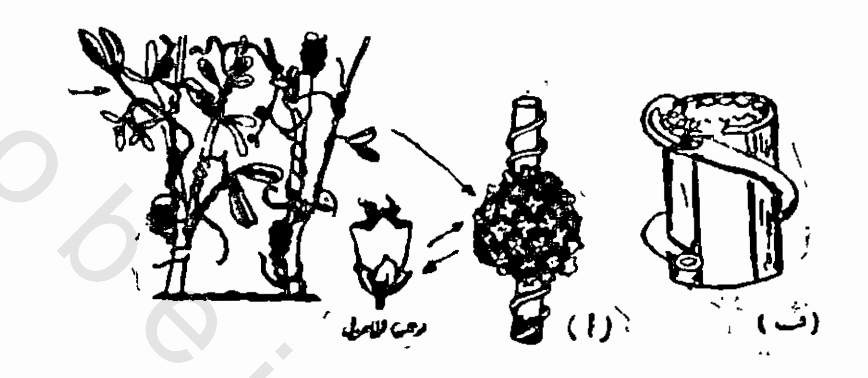
حامول البرسيم   *Cuscuta planiflora*

افحص نبات حامول متطفل على ساق نبات برسيم ولاحظ ما يأتى :

١ ـ السوق الخيطية المصفرة اللون التى تلتف حول ساق البرسيم التفافا حلزونيا وتتصل به اتصالا قويا بواسطة ممصات تخترق أنسـجة العائل (شـكل ٣٢) •

٢ ـ اعمل قطاعا عرضيا فى ساق برسيم يمر بمنطقة ممص ولاحظ أن

(شـــكل ٣٢)



حامول البرسيم يلتف حلزونياً حول الساق
ومكونا مجاميعاً من الأزهار (أ) - لاحظ إختراق
ممص الحامول لأنسجة العائل (ب)

الممص يتكون من منطقتين الاولى قشرة مستطيلة والثانية اسطوانة مركزية تشمل خلايا وعائية • تمتد الخلايا الوعائية داخل قشرة ساق البرســيم ويتصل خشب الطفيل بالاوعية الخشبية للعائل ، ويتصل لحاء الطفيل بلحاء العـــائل •

٣ ــ الاوراق عبارة عن حراشيف دقيقة خالية من الكلوروفيل ، ولذا فانه يتطفل على عائلة تطفلا كاملا •

٤ ــ الازهار تتكون فى مجاميع ، والثمار علبة متفتحة يحتوى كل منها على ٣ــ٥ بذور صغيرة مستديرة ومادية أو محمرة وذات غلاف سميك •

الفصــل العــــاشر

أمــراض ناتجة عن مسببات غير طفيلية

NON-PARASITIC DISEASES

تصمغ أشجار الفاكهة ذات النــواة الحجرية

يصيب هذا المرض أشجار المشمش والبرقوق والخــوخ فى الاراضى الرديئة الصرف ذات مستوى المـــاء الارضى المرتفع • يظهر على أفـــرع وأغصان الشجرة فصوص مختلفة الاحجام من الصمغ ، وتكون الافـــرع خالية من الاوراق وذلك لسقوطها ثم تذبل وتجف ، كما تكون الثمار صغيرة ضامرة ، وفى حالة الاصابة الشديدة تتعفن الجذور وتموت •

سمط ة الشمس فى الفلفل

افحص ثمار فلفل مصابة بسمطة الشمس ولاحظ وجود منطقة مجعدة بيضاء مصفرة على جانب من الثمرة المعرض للشمس الساطعة وخاصة فى الايام شديدة الحرارة صيفا • تلوث البقعة نتيجة ارتفاع درجة حـــرارة الانسجة التى أسفل سطح البقعة عن الاجزاء المظللة من الثمرة وعن الهواء المحيط بها مما يؤدى الى شحوب لونها وجفـــافها وهبـــوطها عن مستوى سطح الثمرة وظهور التجعدات على سطحها •

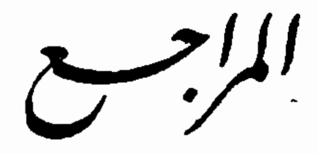
تقـــــرح الكمثرى

يعتقد أن هذا المرض ناشىء من عدم توافق الطعم مع الاصل اذ يظهر على الافرع والساق الرئيسية عنـــد تطعيم الكمثرى على أصـــل كاليريانا وخاصة فى الاراضى الرديئة الصرف •

افحص فرع مصاب ولاحظ القرح ذات الحلقات المستديرة المتلاحمة وجفاف الاجزاء المصابة وموتها وخاصة من أعلى الى أسفل •

تشقق جذور الجــزر

افحص جذور الجزر المتشققة طوليا ولاحظ اختلاف عمق الشـــق ف الطول والعمق وقد يصل عمقه الى الاسطوانة الوعائية • ينتج هذا المرض نتيجة رى غزير بعد فترة جفاف كما يساعــد التسميد الازوتى على زيادة الاصابة •



ابراهيم ، اسماعيل على والعروسى ، حسين ١٩٧١ • أمراض النباتات العملى • دار المطبوعات الجديدة • اسكندرية ١٥٨ صفحة •

Agrios, G.N. 1978. Plant Pathology - Academic Press, New York, 703 pp.

Alexopoulos, C.J. 1964. Introductory mycology. John wiley, N.Y. 613 pp.

Arx, T.A. Von. 1975. The genera of fungi sporulating in pure culture. 2nd ed. J. Cramer, Vaduz, 315 pp.

Barnett, H.L.1966. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publ. Co, Minneapolis, 225 pp.

Barron, G.L. 1968. The genera of Hyphomycetes from soil. Williams & Wilkins Co. Baltimore, 364 pp.

Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. C.M.I., Kew, 237 pp.

Booth, C. 1971. Methods in Microbiology. Vol. 4. Methods in mycology. Academic Press, London, 795 pp.

Commonwealth Mycological Institute 1960. Herb. I.M.I. Handbook. Methods in use at the Commonwealth Mycological Institute C. A.B., London, 103 pp.

C.M.I. 1968. Plant Pathologists Pocketbook. C.A.B., London. 267 pp.

Dade, H.A. and J Gunnell 1966.Class work with fungi, notes for teachers. C.M.I., Kew, 55 pp

Ellis, M.B. 1971 Dematiaceous Hyphomycetes. C.M.I. Kew, 507 pp.

Kiraly, Z. 1974. Methods in Plant Pathology, with special reference to breeding for disease resistance. Academy of Science, Budapest, 509 pp.

Nyvall, R.F. 1979 Field crop Diseases. Handbook. The Avi publ. Co. Inc. Westport, Connecticut, USA, 436 pp.

Smith, G. 1969 An introduction to industrial mycology. 6th ed Edw. Arnold Ltd., London, 360 pp.

Southey, J.F. 1959 Plant Nematology. Min Agric., Fisheries and Food. London, Tech, Bull No. 7, 195 pp.

Talbot, P.H.B. 1971. Principles of fungal taxonomy. Mac Millan, London, Basingstoke, 274 pp.

الفهـــــرس

الموضوع	صفحة

● **الفصل الرابع :**

الموضوع	صفحة

الموضوع	صفحة

طبع بمطابع جريدة السفير

مقدمة

بسم الله الرحمن الرحيم

الى المكتبة العربية بوجه عام والى المشتغلين بعلم أمراض النبات ، أساتذة ودارسين بوجه خاص .

نقدم هذا الكتاب عن الدراسة المعملية لمادة أمراض النبات ، مراعين فيه الشمول والبساطة لمنهج متكامل ، موجهين فيه الدارس الى كيفية الدراسة واجراء فحص العينة وما يتوقع أن يراه منها سواء كان الفحص بالعين المجردة أو بالمجهر ، مستعينا فى ذلك برسومات توضيحية مبسطة ، لا تغنى الطالب عن رسم الواقع بل مساعدة له على فهم ما يراه .

كما يساعد الكتاب كل من أراد أن ينشىء أو يطور معملا لامراض النبات ، فمواصفاته مدونة ومحتوياته مذكورة ووسائل الفحص من ميكروسكوبات وحضانات وبيئات وصبغات وغيرها قد شملها الكتاب ذكرا وتركيبا .

نشكر القراء الافاضل ونرحب بنقدهم البناء .

المؤلفون

الباب الأول

اعداد معمل لدراسة أمراض النبات

تستهدف دراسة المرض النباتى تحديد المسبب المرضى والتعرف عليه لاختبار الطرق الفعالة لمقاومته ، وقد يستلزم ذلك عزل الكائن المسبب وتنميته فى مزرعة نقية والتعرف عليه من الناحية التقسيمية ، وتحديد الظروف المناسبة لنموه ثم اختبار قدرته على الاصابة .

وتتطلب تلك الدراسة اعداد معمل يختار موقعه بحيث يكون بعيدا عن الاتربة والتيارات الهوائية الشديدة ، كما يراعى فى تصميمه وشكل نوافذه الاقلال من تلوث جو المعمل ، وتيسر نظافة جدرانه وأرضيته . وبالنسبة الى احتمال عدم توفر جميع هذه الشروط فى اعداد معمل أمراض النبات فيلحق بالمعمل حجرة صغيرة لاجراء عمليات العزل والتنقية ابعادها حوالى ٢×٢×٣ متر ، وتحتوى على منضدة صغيرة سهلة التنظيف عليها مصباح غاز الاستصباح ويوجد بالحجرة فتحة دائرية تسمح بدخول الهواء المعقم، ويوجد بالسقف لمبه تعطى أشعة فوق بنفسجية فى المدى من ٢٠٠٠ ــ ٢٥٠٠ أنجستروم وهذا المدى من الاشعة يقتل جميع الكائنات الحية ، وتعمل اللمبة بواسطة مفتاح من خارج الحجرة حتى لا يتعرض الطالب أو الباحث للاشعة حيث أنها ضارة للانسان أيضا ، كما توجد لمبة أخرى بيضاء فلوسنت للاضاءة أثناء عمليات العزل وغيرها ، وللحجرة باب مزدوج بكل منه شباك صغير زجاجى مربع أو مستطيل الشكل ليظهر اللون البنفسجى للاشعة أثناء تعقيم الحجرة . يستغرق تعقيم الحجرة حوالى عشر دقائق ثم تترك لمدة خمس دقائق أخرى ، يدخل بعدها الطالب أو الباحث من الباب

الخارجى ويغلقه ثم من الباب الداخلى ويغلقه أيضا ويضىء أيضا لمبة الفلورسنت البيضاء ، ويبدأ فى عمليات العزل أو التنقية أو النقل أو غير ذلك •

الادوات اللازمة :

أهم الادوات اللازمة هى أطباق بترى وأنابيب اختبار وغيرها وهى التى تستخدم دائما فى أغراض العزل والتنقية ، ويستحسن أن تكون الانابيب والاطباق من الزجاج البيركس الذى يتحمل المعاملات الحرارية •

الانابيب الزجاجية :

تعمل سدادات الانابيب من القطن غير الماص لتنقية الهواء من الكائنات الملوثة ويجب أن تعمل بالسمك المناسب بحيث تحافظ على شكلها عند اخراجها أو ادخالها من الانبوبة ، وذلك بلف شرائط من القطن بعرض ٥ سم تقريبا وثنى الجانبين للداخل حتى يصبح العرض حوالى ٣ سم وتلف الى السمك المناسب لقطر الانابيب •

أطباق بترى Petri dishes

وهى أطباق مستديرة مسطحة ذات أغطية مشابهة وأوسع قليلا •

تصنع أطباق بترى بأقطار مختلفة ولكن الاطباق الاكثر استعمالا ذات قطر ١٠ سم من الخارج وارتفاع ٥ر١ سم ، وحيث أن الكائنات النامية بالاطباق تحتاج الى هواء فان الهواء الخارجى يدخل الى الداخل خلال جزءى الطبق ولكن يكون الهواء غير مرشح ـــ وليس كما هو الحال فى الانابيب التى تكون مغطاة بسدادات قطنية ـــ ولذلك يفضل أن تترك الاطباق التى بها كائنات دقيقة مقلوبة الوضع حتى تسقط الكائنات

الخارجية المحمولة بالهواء على السطح الداخلى لغطاء الطبق ولا يحدث تلوث .

زجاجات البيئات :

يستعمل لذلك زجاجات تسع حوالى ٢٥٠ مل وتملأ بالبيئة المغذية الى حوالى نصفها وتسد بسدادة من القطن مثل الانابيب .

أدوات زجاجية أخرى : وذلك مثل الدوارق المخروطية والكروية والمخابير المدرجة والماصات والسحاحات والاقماع والنواقيس الزجاجية وزجاجات التنقيط وأوعية كوبلين وأنابيب العينات والشرائح وأغطية الشرائح وغغيرها .

أدوات غير زجاجية :

تشمل أدوات التشريح أبر مختلفة الاشكال منها المدببة والسهمية ذات الحواف الحادة وأفضلها ما يكون مصنوعا من الكروم ومثبتة فى يد ألومنيوم أو خشبية ، ومنها الابر الرفيعة المصنوعة من سلك من البلاتين وذات عقدة طرفية ، وأيضا من أدوات التشريح والمقصات والمشارط غير القابلة للصدأ والملاقط المدببة والعريضة الطرف .

ومن الادوات الاخرى المطلوب توفرها أسبتة سلك مستديرة أو مربعة لحمل أنابيب الاختبار أثناء التعقيم وحوامل من السلك أو الخشب لحمل الانابيب أثناء الدراسة ، وعلب اسطوانية من النحاس لتعقيم أطباق بترى ، ومصابيح بنزن وحوامل مثلثة وأقلام للكتابة على الزجاج .

الاجهـــزة :

يلزم أن يتوفر فى معمل أمراض النبات أفـــران كهربائية تصل الى

٢٠٠°م لتعقيم أطباق بترى وغيرها من الادوات الزجاجية ، وأوتكلاف وهو معقم بالبخار تحت ضغط مرتفع لتعقيم البيئات المغذية والسوائل ، وكذلك غلاية Steamer وهى معقم بالبخار تحت الضغط الجوى ، وحضانات incubators وهى أجهزة خاصة يمكن التحكم فى درجة حرارتها وذلك لغرض تنمية الكائنات الدقيقة على الدرجة المناسبة لنموها وتكاثرها .

ومن الاجهزة الاخرى ميكروسكوبات وموازين حساسة وجهاز قوة مركزية طاردة وجهاز رج Shaker وخلاط وخلافه .

الحضانات : incubators

وهى أجهزة يمكن التحكم فى درجة حرارتها حيث تضبط أوتوماتيكيا على درجة حرارة معينة ، وهى ضرورية للحصول على نمو سريع للكثير من أنواع الفطريات عند تنميتها على درجة حرارة ملائمة لنموها حيث تنمو معظم الفطريات جيدا على درجة حرارة ٢٥°م والبكتريا من ٣٠–٣٥°م . ويلزم استخدام الحضانات فى دراسة تأثير درجات الحرارة على النمو الميسيليومى وتكوين جراثيم الفطريات ، وفى هذه الحالة توضع المزارع الفطرية فى مدى واسع من درجات الحرارة ولذلك توفر عدة حضانات يضبط كل منه على درجة حرارة معينة طوال مدة التجربة . ومن المستحسن أن يكون بالمعمل عدة حضانات صغيرة عن وجود حضان واحد كبير .

الغلاية Steamer

معقم بالبخار تحت الضغط العادى ، وهى عبارة عن وعاء نحاسى مستطيل أو أسطوانى الشكل ، الجزء السفلى منه حمام مائى ويوجد فوق مستوى سطح الماء رف نحاسى مثقب توضع عليه الادوات المراد تعقيمها .

يقفل الوعاء النحاسى بغطاء غير محكم لخــروج البخار ولوضـــع ترمومتر لقراءة درجة الحرارة •

الاوتوكــلاف Autoclave

معقم بالبخار تحت ضغط يفوق الضغط الجوى ، ويستخدم فى تعقيم البيئات المغذية والادوات الزجاجية والتربة المستخدمة فى تجارب الاصص• تصنع الاوتوكلافات من مادة فــولاذية فتتحمل الضغط المرتفع ، وتعمــل بالكهرباء أو بغاز الاستصباح • يوجد بداخل الاوتوكلاف وعاء نحـــاسى توضع به المواد المراد تعقيمها ويقفل بغطاء محكم ، والجهاز مزود بفتحة لخروج الزائد وصمام أمن ، ويمكن معرفة ضغط البخار بواســطة مقياس ضغط Pressure gauge ، والضغط المعتاد فى تعقيم البيئات هو ١٥ رطل/البوصة المربعة وتصل درجة الحرارة الى ١٢١°م •

ويمكن استخدام الاوتوكلاف فى التعقيم بدون ضغط مرتفع أى يعمل كالغلاية فى هذه الحالة ، وذلك اذا لم يحكم غلــق الغطاء وسمح بخـــروج الغطاء خلال الفتحة •

الافـــــران Ovens

وهى أجهــزة كهــربائية لتعقيم أطباق بترى وغــيرها من الادوات الزجاجية بالهواء الساخن الجاف على درجة حــرارة ١٦٠°م لــدة ثلاث ســاعات •

يترك الفرن ليبرد حتى تصل درجة حرارته الى درجة حرارة الغرفة ثم يفتح الفرن وتستخدم الاطباق والادوات الزجاجية •

التعقيم

STERILIZATION

من الضرورى عند استخدام مزارع لتنمية الفطريات والبكتريا تعقيم جميع الادوات والبيئات المستخدمة منعا لحدوث تلوث بكائنات أخرى ٠

وتتباين طرق التعقيم تبعا لطبيعة المواد المراد تعقيمها ، فتعقم الادوات الزجاجية فى هواء جاف ساخن داخل فرن كهربائى على درجة حرارة ١٦٠°م لمدة ثلاث ساعات ، أما البيئات المغذية فتعقم فى هواء رطب ساخن داخل الاوتوكلاف ٠

وقبل اجراء تعقيم الادوات الزجاجية يجب غسلها أولا بمحلول تنظيف وشطفها بماء الصنبور ثم بماء مقطر ، ويسد الطرف العريض للماصات ـ الذى يوضع بالفم ـ بقطعة من القطن الجاف بحيث لا يبرز جزء من القطن خارج الماصة أو يلمس الفم ، ثم توضع الماصات فى علب نحاسية اسطوانية طويلة ، أما أطباق بترى فترتب فى علب اسطوانية نحاسية أيضا ٠

وبعدما يتم تعقيم الاطباق يجب عدم فتح الفرن الى أن تصل درجة حرارته الى درجة حرارة الغرفة ثم يفتح الفرن وتستخدم الادوات ٠

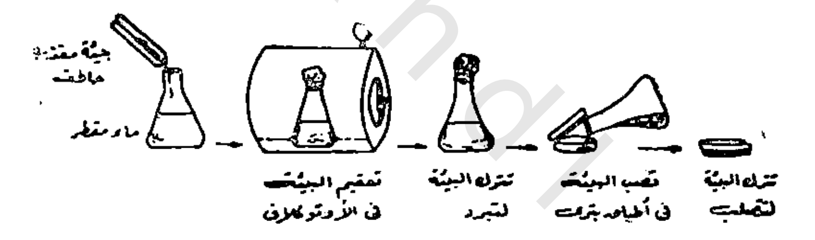
ويراعى تعقيم الادوات الزجاجية المتصلة بأنابيب أو سدادات من الكاوتشوك فى الاوتوكلاف مع سد الانابيب أيضا بسدادات قطنية ولف جميع الادوات الزجاجية بالورق ٠

وتعقم البيئات المغذية فى الاوتوكلاف تحت ضغط ١٥ رطل/البوصة المربعة (= ١٢١°م) لمدة عشرين دقيقة ، أما البيئات المحتوية على سكريات

أو فيتامينات أو مواد منشطة للنمو فانها تتأثر بالحــرارة المرتفعة ولذلك يفضل تعقيمها تحت ضغط ٥ رطل/البوصة المربعــة (= ١٠٧°م) لمــدة عشرين دقيقة يوميا وذلك على ثلاث أيام متتالية •

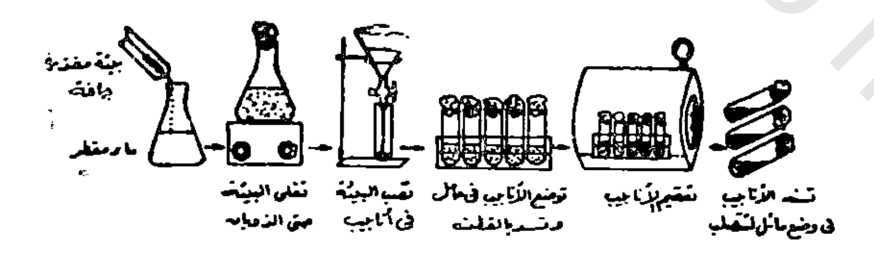
ولتطهير الاجزاء النباتية واستخــدامها كبيئة طبيعية لنمو بعــض الفطريات تستخدم مادة أكسيد بروبيل Propylene oxide ، وذلك بتقطيع الجزء النباتى على هيئة شرائح رقيقة ترطب قليلا بالمــاء وتوضع فى اناء زجاجى محــكم الغطاء ، ثم يوضــع فى الوعاء مادة أكسيد بروبيل بنسبة ١ مل/لتر فراغ • ويغلق الوعاء جيــدا ويترك لمــدة ٢٤ ســاعة ثم يفتح الغطاء قليلا ليسمح للغاز بالتسرب لمدة عدة ساعات ، ثم توضع الشرائح بواسطة ملقط معقم على بيئة الاجار المغذية المعقمة وهى لا زالت ســائلة مما يساعد على التخلص من بقايا مادة التبخير •

شــكل ١



تحضير البيئة المغذية الصلبة فى أطباق بترى

شــكل ٢



تحضير البيئة المغذية الصلبة على هيئة آجار مائل فى أنابيب

ويراعى أنه قبل البدء فى عمليـــة صب البيئات فى الاطباق المعقمــة (شكل ١) والانابيب (شكل ٢) غلق النوافذ لتلافى حدوث تيارات هوائية وتطهر المنضدة التى عليهـــا الاطباق بمحـــلول مائى (٥٪) من الفينول ، وتعقيم الهواء المحيط برشة برذاذ من محلول الفينول بواسطة رشاشـــة دقيقة الثقوب وتطهير الايدى بالكحول •

البيئــات المغــــذية

CULTURE MEDIA

البيئات المغذية هى الوسط الذى تنمو عليه الفطــريات والبكتريا فى المعمل ، وعند تنمية الفطريات أو البكتريا فى المعمل فمن المعتاد تنميتها على هيئة مزارع نقية بخلاف ما يحدث فى الطبيعـــة حيث تختلط مـــع بعضها البعض فى هضم المواد الغذائية التى توجد فى الوسط الذى تنمو عليـــه ، وعلى ذلك فانه من غير الممكن حفظها جميعا على بيئة واحدة قياسية ، ولكن اذا لم تنمو بعض الكائنات الدقيقة جيدا على بيئة معينة فقـــد تنمو عليها البعض الاخر نموا جيدا ، وعلى ذلك فهناك العديد من البيئات التى تتباين فى طبيعة مكوناتها . ويحدد اختيار البيئة الغرض من استعمالها فاذا كان الغرض هو عزل الفطر أو البكتريا فقط يجب أن توفر البيئة سرعة النمو وأن تكون شفافة ، واذا كان الغرض هو تشـــجيع تكوين جـــراثيم الفطر فيفضل أن تكون البيئة ضعيفة فى مكوناتها الغذائية ، ولغرض الاختبارات الكيميائية الحيوية يلزم أن تكون مكونات البيئة من المواد الكيميائية فقط . وتستخدم البيئات وهى فى حالة سائلة أو فى حالة صلبة ، وعند استخدامها فى حالة صلبة يضاف اليها الاجار Agar بمعـــدل ١٥ـــ٢٠ جم/لتر . يلزم أن تحتـــوى البيئة على عناصر ضرورية أهمها الكربون والايدروجين والاكسجين والازوت والفوســـفور والكبريت والبـــوتاسيوم والمغنسيوم والحديد ، ويفضل استخدام ماء الصنبور عن المـــاء المقطر حيث يحتوى ماء الصنبور على كميات ضـــئيلة من العناصر الصـــغيرة التى تحتاج اليها معظم الفطريات . تفضل الفطريات الوسط الذى يميل قليلا الى الحموضة فيضبط pH البيئة من ٦ـــ٥ر٦ ، وتفضل البكتريا الوسط الذى يميـــل قليلا الى القلوية فيضبط pH البيئة من ٢ر٧ ـــ ٤ر٧ .

وتقسم البيئات المغذية الى ثلاثة أنواع كما يأتى :

أولا — البيئات الطبيعية Natural Media

تتكون هذه البيئات من مواد طبيعية معقدة غير معروفة التركيب مثل الاجزاء النباتية المختلفة من الخضر والفاكهة ومثل الخبز والمولت والسماد العضوى وغيرها • استخدمت البيئات منذ القدم فقد استعملها المشتغلون الاوائل بعلوم الفطريات وأمراض النبات •

تستخدم بعض من هذه البيئات على هيئة قطع بشكل نصف اسطوانة كما فى حالة البطاطس والجزر أو على هيئة حبوب كاملة مثل حبوب القمح والشعير والارز والذرة أو على هيئة جريش مثل جريش الذرة أو على هيئة مستخلصات • تتميز البيئات الطبيعية بأنها رخيصة الثمن وسهلة التحضير حيث يتم تحضيرها باضافة الماء ثم التعقيم ، ومن تلك البيئات الطبيعية ما يأتى :

١ — مستخلص المولت Malt Extract Agar

وتتركب من المكونات الآتية :

مستخلص المولت	٢٠جم
آجار	٢٠جم
ماء	١ لتر

يغلى مستخلص المولت فى الماء حتى الذوبان ويضاف الاجار ويستمر الغليان حتى الذوبان ثم تعقم •

٢ — بيئة آجار دقيق الذرة Corn Meal Agar

دقيق ذره	٣٠جم
آجار	٢٠جم
ماء مقطر	١ لتر

٣ ـ بيئة آجار دقيق الشوفان Oatmeal Agar

وفى هذه البيئة يستبدل دقيق الذرة بدقيق الشوفان ٠

٤ ـ بيئة آجار البطاطس والجزر Potato carrot Agar

وتتكون من الآتى :

بطاطس	٢٠جم
جـــزر	٢٠جم
آجار	٢٠جم
ماء	١ لتر

تغسل درنات البطاطس وتقطع دون تقشـير الى مكعبات صـغيرة ويوزن منها ٢٠جم ، وتغسل جذور الجزر وتقطع أيضا الى قطع صـغيرة ويوزن منها ٢٠جم ٠ تغلى قطع البطاطس وقطع الجزر فى دورق سعة لتر مع المـاء ثم تصفى وتكمل الى لتر وتعبأ فى زجاجات أو دوارق وتعقم فى الاوتوكلاف ٠

٥ ـ بيئة مستخلص ثمـانى خضر V-8 Agar

وتتكون من الآتى :

مستخلص ثمانى خضر	٢٠٠ مل
آجار	٢٠ جم
ماء	٨٠٠ مل

يمكن الحصول على المستخلص جاهزا واذا لم يتـوفر المستخلـص المحضر فيمكن اختيار بعـض الخضر المتـوفرة فى السـوق كالبطاطس والفاصوليا والجزر ٠ يغلى ٥٠جم من بذور الفاصوليا الجافة و ١٠٠جم من

الجـــزر و ٢٠٠جم من البطاطس لمـــدة ساعة فى لتر من المـــاء ثم يرشـــح المستخلص •

يذاب الاجار بمفرده فى الماء ويضاف الى المستخلص • يضـــبط رقم pH الى ٦ بواسطة أيدروكسيد الصوديوم • تعقم البيئة تحت الضغط ١٥ رطل/البوصة المربعة ٢٠ دقيقة • تصلح هذه البيئة لتنميـــة كثير من الفطريات ، كما أنها تصلح أيضا لتنمية الاكتينوميسيتات باضافة كربونات كالسيوم ٤ر٠جم/١٠٠ مل من البيئة ويضبط رقم pH الى ٣ر٧ بواسطة أيدروكسيد البوتاسيوم •

ثانيا : بيئات طبيعية تركيبية Natural Synthetic Media

تتكون البيئات الطبيعية التركيبية من مواد طبيعية مضافا اليها مواد معروفة التركيب،ومن أفضل تلك البيئات بيئة آجار البطاطس والدكستروز Potato Dextrose Agar وتعرف فى معامل أمراض النبات باسم *PDA* ولكن من عيوب تلك البيئات أنها غير ثابتة التركيب أيضا حيث يدخـــل فى تركيبها مواد طبيعية •

١ ـــ بيئة آجار البطاطس والدكستروز :

وتتكون من الآتى :

بطاطس	٢٠٠ جم
دكستروز	٢٠ جم
آجار	٢٠ جم
ماء	١ لتر

تغسل درنات البطاطس وتقطع دون تقشير الى مكعبات صـــغيرة • يوزن ٢٠٠جم وتشطف تحت ماء جار لمدة دقيقة وتوضع فى دورق به لتر ماء وتغلى الى أن تصبح طرية •

ترشح خلال قمع به موسلين • يضـــاف الى الراشـــح ٢٠جم آجار ويغلى ثانية الى أن يذوب الاجار • يضاف ٢٠جم دكستروز ويقلب حتى الذوبان وتكمل البيئة الى لتر وترج جيدا حتى تصبح متجانســـة ثم تعبأ البيئة وتعقم •

بيئة آجار البطاطس والدكستروز من أكثر البيئات الفطرية شيوعا فى معامل أمراض النبات وتصلح لاغراض العزل والدراسة المورفولوجية •

٢ ــ بيئة آجار البطاطس والسكروز Potato Sucrose Agar (PSA)

تشبه البيئة السابقة ما عــدا اســتبدال الدكستروز بالســـكروز • تستخدم هذه البيئة فى تسمية أنواع فطر فيوزاريوم *Fusarium*

٣ ــ بيئة آجار كـــون Conn's Agar

تتكون من الآتى :

نترات بوتاسيوم	ــر٢ جم
كبريتات مغنسيوم	٢ر١ جم
فوسفات بوتاسيوم ثنائى الايدروجين	٧ر٢ جم
مالتـــوز	٧ر٢ جم
نشـــا بطاطس	ــر١٠جم
آجار	ــر١٥جم
ماء	١ لتر

٤ ــ بيئة الاجار المغـــذى Nutrient Agar

تتكون من الآتى :

مستخلص لحم	١ جم
مسخلص خميرة	٢ جم

ببتــون	٥ جم
كلوريد صــوديوم	٥ جم
آجار	١٥جم
ماء	١ لتر

وتستخــدم هــذه البيئة لتنمية البكتريا • تذاب المكونات فى المــاء يضبط رقم pH الى ٧٫٣ • يضاف الاجار ويذاب وتعقم البيئة •

ثالثا : بيئات تركيبية Synthetic Media

البيئات التركيبية بيئات معروفةالتركيب وكذلك التركيز وتتكون من مركبات كيماوية فقط ، ومن تلك البيئات ما يأتى :

١ ــ تشــابك دوكس Czapek Dox Agar

تذاب المركبات الآتية فى ٥٠٠ مل ماء :

نترات صــوديوم	٢ جم
كلوريد بوتاسيوم	٠٫٥جم
كبريتات مغنسيوم	٠٫٥جم
كبريتات حديدوز	٠٫١جم

ثم تذاب المركبات فى ٥٠٠ مل أخرى من المــاء •

فوسفات بوتاسيوم ثنائى الايدروجين	١ جم
ســكروز	٣٠جم

يضاف المحلول الثانى الى الاول تدريجيا مع التقليب ويضافَ اليهما ٢٠جم آجار • يذاب الاجار وتعقم البيئة • تستخدم هذه البيئة فى تنمية فطريات اسبرجلس *Aspergillus* وبنسيليوم *Penicillium*

٢ ــ بيئةكرنيســكى Krainsky's Medium

تتكون من الآتى :

جـــلوكـــوز ـــر١٠جم

اســـباراجين ٥ر٠ جم

فسفات بوتاسيوم (أحادى الايدروجين) ٥ر٠ جم

آجار ١٥ جم

ماء ١ لتر

تذاب هذه المركبات فى المـــاء • يضبط رقـــم pH الى ٧ وتعقم • تستخدم هذه البيئة لتنمية الاكتينوميسيتات •

٣ ــ بيئة جليسرول الاسباراجين Glycerol Asparagine

تتكون من الآتى :

جليسرول ـــر١٠جم

اسباراجين ـــر١ جم

فوسفات بوتاسيوم (أحادى الايدروجين) ـــر١ جم

آجار ٢٠جم

ماء ١ لتر

وتستخدم هذه البيئة أيضا لتنمية الاكتينوميسيتات •

الباب الثانى

طرق دراسة أمراض النبات

المرض النباتى هو انحراف النمو الطبيعى للنبات يظهر فى صورة اختلال فسيولوجى أو تغيير فى التركيب الطبيعى للنبات أو جزء من أجزائه يؤثر تأثيرا ضارا على النبات مقللا قيمته الاقتصادية • وقد ينتج المرض النباتى عن اضطراب فى التوازن بين العائل والظروف البيئية المحيطة به •

ولفحص الحالة المرضية على النبات يستلزم اجراء بعض الدراسات فى مكان ظهور الاصابة بالحقل يتبعها دراسات مكملة فى المعمل •

١ ــ دراسة المرض فى الحقل

يلزم تسجيل أعراض الاصابة فى الحقل سواء على المجموع الخضرى أو المجموع الجذرى أو كليهما ومعرفة تاريخ ظهور الاصابة ومدى انتشار المرض فى الحقل وهل هو واسع الانتشار أو محدد فى بقعة معينة من الحقل ، ونوع التربة والمحاصيل السابقة فى الدورة وهل سبق ظهور المرض فى نفس المكان من الحقل ؟ ومعرفة مدى انتشاره على الاصناف المختلفة فى المنطقة وهل تقتصر الاصابة على صنف دون آخر أم أنه عام الانتشار على جميع الاصناف المنزرعة بالمنطقة • ويراعى أن تشمل الدراسة شدة الاصابة Severity وبالتالى مقدار الخسائر المتسببة منه •

تشمل الدراسة أيضا مصدر التقاوى وهل التقاوى سبق معاملتها كيماويا أو لم يسبق معاملتها ومعرفة المعاملات الزراعية من خدمة ورى وتسميد • وقد يستدل من الاعراض والظروف المختلفة على التعرف على المرض ولكن كل هذه الملاحظات لا تكفى لتحديد المرض حيث أن كثيرا من الامراض تتشابه فى أعراضها ولذلك يجب دراستها فى المعمل •

٢ ـ دراسة المـرض فى المعمل

يفضل أن تؤخذ نباتات كاملة أو أجزاء نباتية تمثل الاعراض النباتية وتؤخذ معها فى نفس الوقت نباتات سليمة للمقارنة • اذا أخذ نبات كامل يفضل أن يكون بجزء من التربة ويوضـع فى كيس من البلاسـتيك حتى لا يجف أثناء النقل ، ويفضل أن تتم الدراسة الميكروسـكوبية فى المعمل بمجرد وصول العينة ، ولكن اذا لم يتسنى ذلك فيمكن حفـظ العينات فى الثلاجة لحين الدراسة • ويستحسن أن يصاحب فحص الاعراض المرضية فى الحقل أو المعمل أخذ صور فوتوغرافية • ويتم الفحص الميكروسكوبى بعد عمل تحضيرات من الطفيل أو من الانسجة النباتية التى تحمل الطفيل وتشمل تلك التحضيرات ما يأتى :

١ ـ الكشـط Scraping

الكشط هو ازالة النمو الخارجى للطفيل عن سطح العائل فلا يدخل من العائل شىء من أنسجته • الغرض من الكشط فحص شكل الهيفات والحوامل الجرثومية والجراثيم وبذلك يمكن التعرف على الطفيل • وقـد يكون من المناسب وضع الانسجة المصابة فى جو رطب لفترة يوم واحد أو يومين حتى ينمو الميسيليوم وتتكون الجراثيم بالقدر الذى يمكن كشـطه وفحصـه بسهولة ووضـوح •

٢ ـ السـلخ Stripping

السلخ هو نزع بشرة العائل بما عليها من نمو الطفيل بغرض ملاحظة توزيع الميسيليوم على سطح العائل أو فحص شكل الحوامل الجـرثومية وطريقة خروجها من الثغور أو ملاحظة الممصات وشكلها فى خلايا البشرة ، وكذلك فحص انبات الجراثيم على سطح العائل وطـريقة اختراق أنابيبها الجرثومية للبشرة •

ويحضر السلخ فى أنسجة غضة ممتلئة • ويمكن عمل السلـخ وذلك بعمل قطع غير عميق للبشرة والقشرة بواسطة موسى حاد ثم يمسك طرف القطع بواسطة ملقط وتنزع البشرة بسرعة ويراعى عدم احتواء السلخ على جزء من الانسجة الداخلية ، واذا احتوى السلخ على جـزء سميك يفصل ويستبعد •

٣ ـ السـحق Teasing

تستخدم طريقة السحق فى اختبار وجود النيماتودا وأطوارها داخل الانسجة النباتية ، كما يفيد السحق فى الاغـراض البكتيرية حيث تظهـر البكتيريا فى محلول التحميل مسببة تعكيره • ولجعل الانسجة الصلبة مفككة ينقع النسيج أولا فى محلول من البوتاسا الكاوية (٥٪) لمدة حوالى ٢٤ ساعة ، وللاسراع من عملية التفكيك تغلى الانسجة فى البوتاسا الـكاوية لـمدة قصيرة • تغسل الانسجة بعد ذلك فى المـاء وتوضع على شريحة فى نقطة من ماء الصنبور وتسحق بقاعدة ابرة التشريح أو تمزق بواسـطة ابرتين ثم يوضع غطاء الشريحة وتفحص •

٤ ـ القطـع Sectioning

يمكن عمل قطاعات اليد بمهارة باستخدام مـوسى القطع أو موسى حلاقة حاد • تمسك النماذج النباتية المصابة (مثل السيقان والجذور) بين الابهام والسبابة مع عدم الضغط الزائد خوفا من سحق الانسـجة ، أما النماذج الرقيقة مثل الاوراق فتوضع داخل نخاع بيلسان أو جذر جزر بعد شقه طوليا ويوضع الجزء المصاب من الورقة بين شقى النخاع أو الجذر وتعمل فيه القطاعات العرضية • تنقل القطاعات بعد تحضيرها مبـاشرة فى المـاء •

ولتحضير قطاعات أكثر دقة يمكن استخـــدام الميكروتوم الثلجى أو الميكروتوم الشمعى .

عمل القطاعات بالميكروتوم الثلجى :

يعد الميكروتوم الثلجى من أفضل الطرق وأسرعها فى تحضير القطاعات وعلى الاخص من النماذج اللينة الرقيقة التى يصعب قطعها باليد فتكون القطاعات كاملة وذو سمك ثابت يمكن ضبطه ويتراوح السمك من ٢٠ـ٤٠ ميكرون . ويعتمد الميكروتوم الثلجى على تبريد النموذج بواســطة غاز ثانى أكسيد الكربون لدرجـــة التجميد فى محـــلول منـــاسب لا يتبلور عند التبريد ويكتسب من الصلابة ما يمكن بها قطعه بسهولة ، ولذلك فيتصـــل الميكروتوم الثلجى باسطوانة غاز ك أ٢ السائل ، وعند فتح ضابط الغـــاز يندفع الغاز بقوة على درجة حرارة منخفضة جدا فيتجمد الســـائل الذى يحيط بالنموذج المحمل على مائدة التبريد وبذلك تتكون كتلة صلبة متماسكة يمكن قطعها بسهولة . ويتكون السائل المستخدم فى تحميل النموذج من ماء وصمغ عربى وفينول أو ثايمول بنسبة ١٠٠ : ٢٠ : ١ .

يقطع النموذج الغض الى قطع مناسبة وتوضع فى ماء جار ثم تنقل الى محلول من الصمغ العربى حيث يغلف النموذج من جميع أجزائه بطبقة منتظمة من محلول الصمغ . توضع نقطة أو نقطتين من محلول الصمغ على مائدة التثليج ويفتح ضابط الغاز ويقفل ويستمر فى ذلك بالتبادل حتى تبدأ النقطة فى التجمد ويتحول لونها للابيض . يوضع النموذج فى هذه النقطة المتجمدة فى الوضع المناسب للقطع ويفتح ضابط الغاز ويقفـــل حتى يتم التجمد ويثبت النموذج . يضاف الى النموذج نقطة فنقطة من الصمـــغ بواسطة فرشاة ويستمر فى التثليج حتى يتم تغطية النمـــوذج ، وعنـــدما يصل النموذج المحمل الى درجة الصلابة المناسبة يبدأ فى القطع .

تنقل القطاعات بفرشاة من موسى الميكروتوم الى طبق بترى به ماء صنبور ليذوب الصمغ بعد ذلك الى محلول التثبيت .

٥ ــ التثبيت Fixing

التثبيت هو قتل جميع خلايا النسيج النباتى قتــلا فجــائيا وتثبيت محتوياتها على حالة أقرب ما تكون الى حالتها الطبيعية من حيث الشــكل والتركيب ، وعلى ذلك فالمواد المستخــدمة فى التثبيت يجب أن تصــل الى جميع الخلايا الموجودة بالنسيج ، ولذلك يجب أن يتوفر فى محاليل التثبيت الصــفات الآتية :

١ ــ أن يكون سريع الانتشار حتى يتخلل الانسجة والخلايا ويقتلها بأسرع ما يمكن .

٢ ــ أن يكسب البروتوبلازم صلابة مناسبة فيتحمل المعاملات المختلفة التى تمر بها الانسجة أثناء التحضير دون تغيير .

٣ ــ أن لا يسبب انكماشا للبروتوبلازم .

٤ ــ أن لا يؤثر فى قابلية الانسجة والخلايا للصبغات .

وبالنسبة لعدم توفر كل هذه الصفات فى محلول واحد ، لذلك تحضر محاليل التثبيت من مادتين أو أكثر تخلط معا لتعادل بعضها . ومن أفضل المحاليل المستعملة فى تثبيت القطاعات النباتية التى يتخللها هيفات فطرية أو النموات الفطرية النامية على البشرة ويحصل عليها بالسلخ أو الكشط ، محلول اللاكتوفينول Lactophenol ويحضر هــذا المحلول من المــواد الآتيــة :

فينول (بللورات)	٢٠ جم
حامــض لاكتيك	٢٠ جم

جليسرين	٤٠ جم
ماء	٢٠ مل

ويستخدم اللاكتوفينول كالآتى :

١ ــ توضع نقطة من اللاكتوفينول فى منتصف شريحة زجاجية نظيفة ويوضع بها التحضير •

٢ ــ تسخن الشريحة تسخينا هينا بتعريضها وتحريكها فوق لهب ضعيف وعلى مسافة حوالى ٢٠سم حتى يبدأ تبخر اللاكتوفينول •

٣ ــ يوضع القطاع فى المنتصف أو تفرد هيفات الفطر بواسطة ابرتين تشريح •

٤ ــ يوضع غطاء الشريحة تدريجيا فوق نقطة اللاكتوفينول وذلك بالاستعانة بابرة تشريح حتى لا تتكون فقاعات هوائية ويزال الزائد من اللاكتوفينول بورقة ترشيح أو ورق بفره •

٥ ــ يفحص التحضير ميكروسكوبيا •

٦ ــ الصبغ :

واذا أريد تثبيت وصبغ النموات الفطرية عديمة اللون فى آن واحد فيمكن اضافة ٥ مل من صبغة أزرق القطن (١٪ صبغة مائية) أو أزرق الميثيل أو أزرق الانيلين الى ١٠٠ مل من محلول اللاكتوفينول الرائق واتباع الخطوات الاتية :

١ ــ توضع نقطة من اللاكتوفينول الازرق فى منتصف شريحة زجاجية نظيفة ويوضع بها التحضير وتسخن الشريحة تسخينا هينا الى تصاعد البخار قليلا •

٢ — ينقل التحضير بعيدا عن نقطة اللاكتوفينول الازرق ويغسل بواسطة عدة نقط من اللاكتوفينول الرائق حتى تزول الزيادة من الصبغة وتظهر الهيفات واضحة الصبغ .

٣ — التحضير الى نقطة من اللاكتوفينول الرائق على شريحة أخرى.

٤ — يوضع غطاء الشريحة برفق ويفحص التحضير ميكروسكوبيا . ويمكن الاحتفاظ بالتحضير بصبغة مستديمة وذلك « ببرشمة » التحضير Sealing وذلك بتطويق حافة غطاء الشريحة مع جزء مساو من الشريحة وذلك بواسطة مادة طلاء الاظافر nail varnish ، وتحفظ فى علبة خاصة بحفظ الشرائح الزجاجية المجهزة .

ومن الصبغات الجيدة للهيفات والجراثيم الفطرية صبغة أسود كلورازول Chlorazol Black B ١٪ فى كحول ايثيل ٩٥٪ .

عمل القطاعات بالميكروتوم الشمعى :

للحصول على قطاعات ممتازة واضحة باستخدام الميكروتوم الشمعى يلزم اتباع خطوات متتالية وهى كالآتى :

١ — تحضير العينات ووضعها فى محلول التثبيت Finxing

٢ — التجفيف .

٣ — الترويق .

٤ — نقل العينات الى شمع البرافين (الاحمر) .

٥ — القطع .

٦ — لصق القطاعات على الشرائح الزجاجية .

٧ — صبغ القطاعات .

وسنتناول شرح كل خطوة فى الآتى :

التثبيت : Fixing

يجب أن تكون العينات النباتية المصابة طازجة وتقطع الى قطع صغيرة وتوضع فى محلول التثبيت لفترة من يومين الى ثلاثة وأحيانا يحدث طغو بعض القطع على سطح المحلول وذلك لاحتوائها على فراغات هوائية مما يعيق انتشار محلول التثبيت ولذلك فمن المستحسن استخدام طريقة تفريغ الهواء وذلك باستخدام مضخة تفريغ الهواء حول محلول التثبيت على فترات قصيرة متتابعة حتى تغمر القطع النباتية فى محلول التثبيت .

ومن أفضل محاليل التثبيت ما يأتى :

ومن أفضل محاليل التثبيت ما يأتى :

١ ـ محلول F.A.A. ويتكون من :

فورمالين ١٣ مل
حمض خليك ثلجى ٥ مل
كحول ايثيل ٢٠٠ مل

٢ ـ محلول كروم ـ حمض الخليك ويتكون من :

حمض كروميك مائى (١٠٪) ١٠ مل
حمض خليك مائى (١٠٪) ١٠ مل
ماء مقطر ١٠٠مل

يضاف ٢٪ مالتوز أو يوريا أو ٥ر٠٪ صابونين وذلك لتسهيل اختراق الانسجة .

٣ ـ محلول فلمنج Flemming ويتكون من :

أ {
ماء مقطر ٥٥ مل
حمض خليك ثلجى (١٪) ١٠ مل
حمض كروميك مائى (١٪) ٢٥ مل
}

ب] حمض أوزميك (١٪) ١٠ مل

يحضر محلول أ ليكون جاهزا للاستعمال ولكن يؤجل تحضير واضافة محلول ب الى محلول أ الا قبل الاستعمال مباشرة حيث أن حامض الاوزميك يتلف اذا حفظ •

تغسل العينات جيدا بعد التثبيت فى ماء جار لمدة ٢٤ ساعة ، وفى حالة استخدام محلول فلمنج تغسل العينات فى محلول ٥٪ فوق أكسيد الايدروجين لعدة ساعات لاتمام تبييض الانسجة حيث أن حامض الاوزميك يسبب اسوداد الانسجة •

وفى بعض الحالات أمكن اجراء التجفيف والترويق فى نفس الوقت وذلك باستخدام تركيزات مختلفة من كحول البيوتايل n-buty' alcohol (butanol) وكحول الايثيل فى الماء يزداد فيها نسبة البيوتايل تدريجيا ويقلل فيها الماء تدريجيا وهذه التركيزات كالآتى :

رقم التركيز	كحول بيوتايل	كحول ايثيل	ماء
١	١٠	٢٠	٧٠
٢	١٥	٢٥	٦٠
٣	٢٥	٣٠	٤٥
٤	٤٠	٣٠	٣٠
٥	٥٥	٢٥	٢٠
٦	٧٠	٢٠	١٠
٧	٨٥	١٥	—
٨	١٠٠	—	—

وبعد التثبيت فى محاول مائى يغسل التحضير فى المـــاء ثم يجفف فى كحول ايثيل حتى ٣٠٪ ثم ينقل الى التركيزات السابقة • فى حالة التثبيت فى F.A.A. ينقل مرتين الى كحول ٥٠٪ ثم ينقل الى تركيز رقم ٢ •

التجفيف Dehydration

من الضرورى ازالة كل أثر لمـــاء الغســيل من الانســجة حتى تتم عمليات الترويق والطمر فى الشمع بنجاح • ويستخدم فى التجفيف كحول الايثيل حيث يمكنه الاختلاط بالمـــاء وازالته من الانسجة وحـــلوله محل المـــاء ، وفى الوقت نفسه يمكنه أن يختلط بالزيلول (سائل الترويق) ، كما يمكن للزيلولبدوره أن يزيل الكحول ويحل محله فى الانسجة• يتم التجفيف فى زجاجات عينات ذات سدادات من الفلين •

تنقل القطع النباتية من المـــاء الى تركيزات متدرجة من الكحول حتى تصل الى الكحول المطلق ويستغرق ذلك عدة ســاعات فى كل تركيز فـــفى التركيزات ١٠٪ و ٢٠٪ و ٣٠٪ و ٥٠٪ تغمر القطع لمـــدة ساعتين فى كل تركيز ، أما فى حالة العينات النباتية التى تثبت فى محـــلول F.A.A. فتنقل مباشرة الى تركيز ٥٠٪ كحول ايثيل • تغمر العينات لمدة اثنى عشر ساعة فى تركيز ٧٠٪ و ٨٥٪ ولمدة ساعتين فى تركيز ٩٥٪ ثم تنقل الى الكحول المطلق ثلاث مرات : تستغرق المرة الاولى من ٢ـــ٤ ساعة والمرة الثانية من ٤ـــ٢٤ ساعة والمرة الثالثة من ٢ـــ٤ ســاعة • وتختلف مــدة المعـــاملة فى التركيزات العالية من الكحـــول تبعا لدرجـــة الصـــلابة المطلوبة حيث أن التركيزات المرتفعة فى الكحول تعمل على زيادة صلابة الاجزاء النباتية •

الترويـــق Clearing (ازالة الكحول De-alcoholization)

الغرض من الترويق هو جعل الانسجة شفافة • ويستعمل فى الترويق الزيلول ، وهو سائل يختلط بالكحول ويحل محله بالتدريج ، ويذيب شمع

البرافين • يزال الكحول بتمرير العينات النباتية فى تدريجـات مختلفة من الزيلول فى كحول مطلق بنسبة ١٠٪ و ٢٥٪ و ٥٠٪ و ٧٥٪ لمـدة أربـع ساعات فى كل تدريج ، ثم تنقل العينات النباتية فى زيلول نقى مـرتين أو ثلاثة كل مرة لمدة ٤ــ٢٤ ساعة لضمان التخلص من الكحول كلية • وقد وجد أن وضع بضع قطرات من صبغة السفرانين المذابة فى الكحـول المطلـق واضافة تلك القطرات الى تركيز ٥٠٪ أو ٧٥٪ من الزيلول فى الكحول المطلق يساعد على رؤية وتنظيم وضع العينات فى الشمع أثناء عملية الطمر •

الطمــر Imbedding

يقصد بالطمر تشرب الانسجة بشمع البرافين وحلوله محل الزيلول وذلك بنقل الاجزاء النباتية الى زيلول جديد فى انابيب عينات ذات غطاء مع اضافة رقائق من الشمــع الى الزيلول الى أن يتشبع الزيلول ويقـف ذوبان الشمع وذلك على درجة الحرارة العادية •

تنقل أنابيب العينات الى سطح فرن الشمع (٣٥ــ٤٠م) وتضاف كمية أخرى من رقائق الشمع كل ساعة تقريبا ويكرر ذلك أربع مـرات • تنقل الانابيب داخل فرن الشمع وهى ما زالت مغطاة لمدة ٢٤ ساعة مـع اضافة كمية أكثر من رقائق الشمع • تسكب أنابيب العينات فى طبق بترى صغير قطره ٥سم داخل فرن الشمع ويترك مفتوحا لسهولة تطاير ما تبقى من الزيلول •

تنقل الاجزاء النباتية الى شمع نقى منصهر داخل قوالب من الورق المقوى الناعم بعد دهان أسطحها الداخلية بالجلسرين ، وذلك لسهولة نزع قالب الشمع بعد تماسكه • ويمكن تنظيم الاجزاء النباتية باستخدام ملقط دافىء لوضع الاجزاء النباتية فى وضع ملائم للقطع وترك مسافة بينها •

يقسم القالب الى قطع صغيرة يحتوى كل منها على قطعة واحدة • وينبغى تجمد الشمع بسرعة وذلك بوضع القوالب فى ماء مثلج حتى لا يتبلور الشمع • ويجب أن يكون شمع البرافين المستخدم قليل التبلور خال من المواد الزيتية وذو درجة انصهار ٥٥م • ويمكن تحسين صفات شمع البرافين وذلك باضافة شمع العسل اليه بنسبة ١٪ •

القطع Sectioning

يراعى أن تكون قطع الشمع مكعبة أو مستطيلة مع ترك اطار من الشمع حول العينة على أن تكون طبقة الشمع أكبر عند القاعدة • تثبت القاعدة على حامل الميكروتوم وذلك بصهر رقائق من الشمع على سطح الحامل بواسطة مشرط ساخن ثم غمس الحامل بما عليه من مكعب الشمع فى ماء بارد ، ويكرر وضع رقائق الشمع حول قاعدة مكعب الشمع وصهرها بواسطة المشرط الساخن حتى يتم تثبيت المكعب على الحامل • يوضع الحامل فى الميكروتوم ويضبط وينظم سمك القطاعات بواسطة التدريج • تفرد شرائط القطاعات فى علبة من الكرتون بعيدا عن التيارات الهوائية •

لصق القطاعات على الشرائح الزجاجية :

تستخدم عدة مواد للصق القطاعات على الشرائح الزجاجية ، ومن أكثر المواد استعمالا البيومين البيض حيث يوضع البيومين بيضة واحدة فى زجاجة نظيفة ويضاف اليها حجم مساو من الجلسرين وآخر من الماء وجرام واحد من سلسلات الصوديوم و ½ جم من بنزوات الصوديوم • ترج المركبات رجا جيدا لعدة دقائق • توضع نقطة واحدة من البيومين البيض فى مركز شريحة زجاجية نظيفة وتنشر بالاصبع حتى تتكون طبقة رقيقة متجانسة على سطح الشريحة • توضع نقطة من الماء على سطح

الشريحة وينقل اليها شريط من القطاعات ويزال الزائد من الماء بواسطة ورقة ترشيح • تسخن الشريحة تسخينا هينا حتى تنبسط الاشرطة ثم توضع الشرائح على سطح فرن الشمع لمدة ٢٤ ساعة • يزال الشمع بغمر الشرائح فى وعاء كوبلن به زيلول لمدة ١٥ دقيقة وتكرر هذه العملية مرة أخرى فى وعاء آخر به زيلول • تنقل الشرائح الى أوعية كوبلن بها تركيزات من زيلول وكحول مطلق بنسبة ٥٠٪ زيلول ثم ٣٠٪ ثم ١٠٪ ثم الى كحول مطلق • تدرج الشرائح فى تركيزات تنازلية من الكحول ٩٠٪ و ٧٠ ٪ و٥٠٪ و ٣٠٪ و ٣٠٪ ثم الى ماء مقطر وذلك لاعدادها للصبغ •

صبغ القطاعات Staining

قبل الصمغ يزال الشمع وذلك بغمر الشرائح بما تحمل من قطاعات فى زيلول ، ثم تدرج الشرائح تنازليا فى تركيزات من الزيلول / كحول حتى تصل الى الماء •

يستخدم فى صبغ القطاعات الشمعية ما يعرف بالصبغ المضاد Counter staining أى يصبغ القطاع بصبغتين أو أكثر فى تتابع ويحدث احلال للصبغة الثانية محل الصبغة الاولى فى بعض الانسجة دون الاخرى ، ومن الصبغات الهامة ما يأتى :

١ — صبغة ثيونين — برتقالى ج Thionin - Orange G

وتتكون هذه الصبغة من ١ر٠ جم من الثيونين تذاب فى ١٠٠ مل من الماء المضاف اليه ٥ جم بلورات فينول • تصبغ الشرائح لمدة ساعة ثم تدرج تصاعديا فى تركيزات من الكحول حتى تصل الى الكحول المطلق • يعاد الصبغ فى محلول مركز من برتقالى ج فى كحول مطلق حتى تفقد

القطاعات لونها الارجوانى المزرق ويصبح لونها مصفر ولا يستغرق ذلك أكثر من دقيقة واحدة • تغسل القطاعات جيدا بالكحـول المطلق وتنقل الشرائح الى زيلول / كحول وتروق فى زيلول وتحمل القطاعات فى كنـدا بلسم Canada Balsam • تصـبغ هيفات الفطر باللون البنفسـجى والجدر باللون الاصفر والاوعية الخشبية باللون الازرق •

٢ ــ صبغة سفرانين ــ أخضر سريع Safranin - Fast green

تغمر الشرائح فى السفرانين المـائى (١ر٠٪) لمدة ٢ــ٨ سـاعات وتغسل بالمـاء حتى يزول الزائد من الصبغة • تمرر الشرائح فى تركيزات تصاعدية من الكحول حتى ٩٥٪ ثم تصبغ بصبغة أخضر سريع المـذاب فى ٩٥٪ كحول لمدة نصف دقيقة • تمرر الشرائح فى كحول مطلق ثم فى زيت قرنفل • تمرر فى زيلول عدة مرات وتحمل فى كندا بلسم • تصبغ الهيفات والجدر السليولوزية للعائل باللون الاخضر وتصبغ الجدر الملجننه والنوايات باللون الاصفر •

٣ ــ صبغة أزرق ميثيل ــ اريثروسين Methyl Blue - Erythrosin:

يحضر محلول مائى من أزرق ميثيل (١٪) ومحلول من اريثروسين (١٪) فى كحول ٩٥٪ • تتبع الخطوات كما فى الطريقة السابقة •• تتلون هيفات الفطر والجدر السليولوزية باللون الاحمر والجدر الملجننه والنوايا باللون الازرق •

٤ ــ صبغة تشيف الحامضية Periodic Acid Schiff

تغمر الشرائح فى محلول حامض ١٪ لـمدة ثلاث دقائق ثم تغسل فى ماء جار لمدة عشر دقائق • تغمر فى دليل تشيف Schiff لمدة عشر دقائق ويحضر هذا الدليل بالطريقة الآتية :

يضاف ١٠٠ مل ماء مغلى على ٥ر٠ جم من الفوكسين القاعدى ويذاب • يترك ليبرد حتى ٥٠°م ويرشح ثم يضاف اليه ١٠ مل من محلول عيارى من حامض أيدروكلوريك و ٥ر٠ جم من ثيوكبريتات البوتاسيوم ويترك الدليل لمدة ١٢ ساعة للترويق ويصبح عديم اللون أو أصفر فاتح •

تنقل الشرائح مرة أخرى لمدة عشر دقائق فى محلول تشيف (مع حفظ الدليل فى زجاجة داكنة اللون مقفلة وبعيدة عن الضوء ويفضل حفظها فى ثلاجة) • تغسل الشرائح فى ماء جار لمدة عشر دقائق ثم تدرج تصاعديا فى تركيزات كحولية الى أن تصل الى الكحول المطلق ثم فى زيت قرنفل ثم فى زيلول عدة مرات ثم تحمل فى كندا بلسم •

تصبغ الهيفات والجدر السليولوزية للعائل بلون أحمر أرجوانى ولكن لا تتأثر الجدر الملجننة بالصبغ •

٥ — صبغة هيماتوكسلين دليفيلد Delafield's haematoxylin

وتفيد فى صبغ التركيب الداخلى للاجسام الحجرية Sclerotia ولتحضير الصبغة يعمل ١٠٠ مل من محلول مشبع من شب الامونيوم ammonium alum ومحلول مكون من ٦ مل كحول مطلق مذاب فيه ١ جم هيماتوكسلين • يضاف المحلول الثانى الى المحلول الاول نقطة فنقطة ثم يعرض للضوء فى زجاجة مكشوفة مدة سبعة أيام ثم يرشح ، ويضاف اليه ٥ر٢ مل جلسرين و ٥ر٢ مل كحول ميثيل • يترك لمدة شهرين حتى ينضج ثم يرشح • ولتحضير قطاعات شمعية فى الاجسام الحجرية تثبت الاجسام الحجرية فى محلول مكون من كحول مطلق وحمض خليك ثلجى بنسبة ٤:١ ، وتمرر فى تركيزات كحولية ٧٠٪ ، ٩٥٪ وكحول مطلق ، ثم تنقل الى مخلوط من كحول ايثيل وكحول بيوتايل بنسبة ٢:١ ثم الى آخر بنسبة ١:٢ ثم تجرى عملية الطمر فى الشمع والقطع بالميكروتوم • يذاب الشمع بالتمرير فى زيلول ثم فى كحولات حتى الماء ثم تصبغ •

الفحص الميكروسكوبى

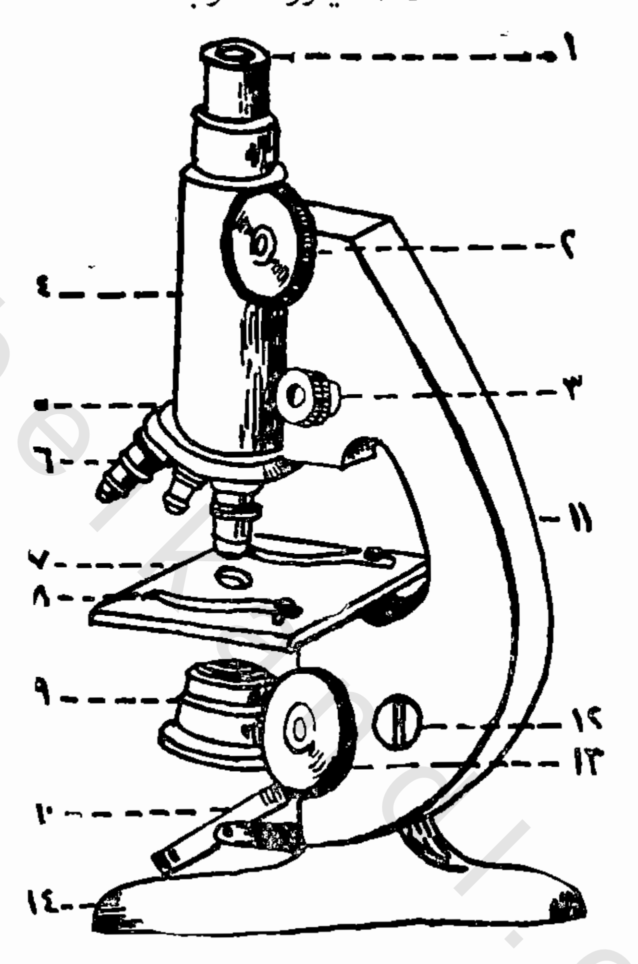
MICROSCOPIC EXAMINATION

وظيفة الميكروسكوب هو امكان رؤية الاجسام الدقيقة التى لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة • ومن المعلوم أن الشخص السليم النظر يمكنه التمييز بين نقطتين المسافة بينهما ٠٫٠٧ مم تقريبا ، ويبعدان عن عينيه مسافة ٢٥ سم أى يصنعان زاوية قدرها دقيقة واحدة (١/٦٠ من الدرجة) وتكون هذه المسافة أقصر مسافة للرؤية الواضحة ، لذا فالصورة التقديرية التى ترى بواسطة الميكروسكوب فى حالة الشخص السليم النظر يجب أن تكون على بعد ١٥ سم من العين ، وعلى هذه بنيت فكرة تركيب الميكروسكوب •

تركيب الميكروسكوب :

يتكون الميكروسكوب (شكل ٣) من قدم يتحرك عليه ذراع حركة مفصلية ، ومثبت على الجزء العلوى من الذراع أنبوبة يمكنها التحرك حركة رأسية بواسطة ضابطين : ضابط تقريبى Course adjustment وضابط دقيق fine adjustment • وتعد أنبوبة الميكروسكوب الجزء الاساسى للميكروسكوب اذ يثبت فى طرفها العلوى العدسات العينية ocular lens وهى ذات قوة تكبير ١٠ مرات عادة ، كما يثبت فى طرفها السفلى العدسات الشيئية objectives ويتراوح عددها من ٢ الى ٥ ، وعادة توجد ثلاث شيئيات الاولى قوة صغرى low power magnification وهى ذات تكبير ١٠ مرات (×10) والثانية قوة كبرى high power magnification ذات قوة تكبير ٤٠ مرة (× 40) والثالثة تعرف

شـــكل ٣ الميكروســـكوب



١ - عدسة عينية   ٢ - ضابط تقريبي   ٣ - ضابط دقيق
٤ - أنبوبة الميكروسكوب   ٥ - قطعة أنفية   ٦ - عدسة شيئية
٧ - المسرح   ٨ - ماسك   ٩ - مكثف
١٠- مرآة   ١١- الذراع .   ١٢- مفصل آلي
١٣- ضابط المكثف   ١٤- القاعدة

بالعدسة الزيتية oil immersion وهى ذات قوة تكبير ٩٥ مرة (95 ×)
وتركب العدسات الشيئية على جسم قرصى يعرف بالقطعة الانفية Nose piece ، تتحرك حركة دائرية بحيث يمكن جعل احدى العدسات الشيئية على امتداد أنبوبة الميكروســكوب وبذلك يمكن الحصول على قـــوة تكبير مختلفة .

ومثبت على الجزء السفلى من الذراع مسرح Stage الميكروسكوب وهو مسطح مربع أو مستدير الشكل وفى منتصفه فتحـــة تسمح للضـــوء بالمـــرور ومثبت أيضاعلى المسرح ماسكين Clips لتثبيت الشريحـــة الزجاجية أثناء الفحـــص •

يتحرك أسفل المسرح مرآة لتـــوجيه الضـــوء الى داخـــل أنبـــوبة الميكروسكوب ، والمرآة ذات وجهين أحدهما مستوى والاخر مقعر ، وكثيرا ما يجهز الميكروسكوب بمكثف condenser يثبت بين المرآة والمسرح وذلك لتجميع الضوء المنعكس من المرآة وتوجيهه لفتحـــة المسرح ، ويزود المكثف بحجاب diaphragm للتحكم فى كمية الضـــوء الواصـــلة الى الميكروسكوب • ومعظم الميكروسكوبات الحديثة مزودة بجهاز اضاءة سفلى ولا تحتاج الى مرآة •

وللاستعمال الصحيح للميكروسكوب تتبع الارشادات التالية :

١ ـــ التأكد من نظافـــة العـــدسات ويفضـــل تنظيفها بورق تنظيف العدســـات •

٢ ـــ الحذر من تلوث أجزاء الميكروسكوب وخاصة العدسات بشىء من المحاليل المستعملة ، واذا تلوثت العدسة الشيئية بلاكتوفينول أو كندا بلسم فتنظف بقطعة قماش بها زيلول ثم تجفف بسرعة ويمكن استخـــدام ورق تنظيف العدسات بعد ذلك • ويجب تجنب استخدام الكحول فى تنظيف العدسات حيث أنه يؤثر فى المـــادة اللاصقة التى تثبت العدســـات ويؤثر أيضا فى دهان الميكروسكوب •

٣ ـــ استخدام القوة الصغرى (الشيئية الصغرى) فى ضبط الضوء ،

ويجب أن يكون الضوء كافيا سواء كان ضوء النهار أو لمبة أسفل فتحة المسرح ، ولذلك يفتح الحجاب عن آخره ويرفع المكثف الى نهايته وتحرك المرآة صوب منبع الضوء وتنظم كمية الضوء الداخلة الى الميكروسكوب بواسطة توسيع أو تقليل فتحة الحجاب أو بخفض المكثف ببطء •

٤ ــ استعمال السطح المقعر للمرآة فى حالة عدم وجود المكثف ، أما فى حالة وجود المكثف فيستعمل السطح المستوى للمرآة عند العمل فى ضوء النهار ، واذا استخدمت لمبة ميكروسكوب كمصدر ضوئى فيستعمل السطح المستوى للمرآة مع القوة الصغرى للميكروسكوب والسطح المقعر مع القوة الكبرى للميكروسكوب •

٥ ــ وضع الشريحة على مسرح الميكروسكوب بحيث يكون التحضير فى مسار الضوء من المكثف الى الشيئية • خفض أنبوبة الميكروسكوب بالضابط التقريبى ببطء بحيث تكون الشيئية الصغرى على بعد حوالى ٥مم من التحضير وتبدأ معالم التحضير فى الظهور ثم يستخدم الضابط الدقيق فى رؤية معالم التحضير • يمكن بعد ذلك استبدال الشيئية الصغرى بالشيئية الكبرى وذلك بادارة القطعة الانفية واستعمال الضابط الدقيق فقط وذلك لرؤية تفاصيل التحضير •

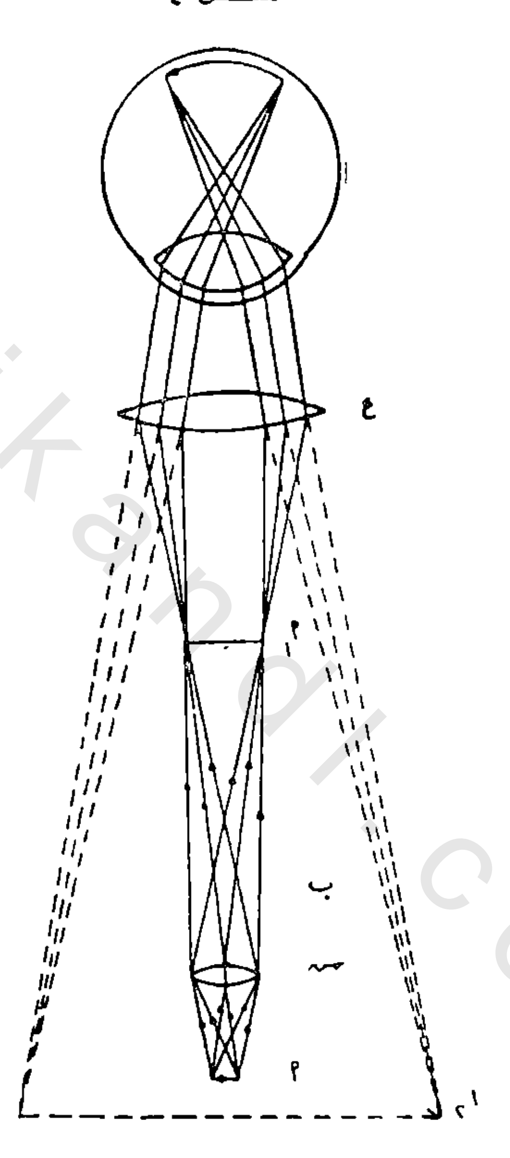
٦ ــ مراعاة وضع غطاء الشريحة على التحضير فى حالة الفحص بالشيئية الكبرى •

٧ ــ تجنب غمض احدى العينين عند الفحص الميكروسكوبى لان ذلك يضعفها ، ويجب التعود على فتح العينين أثناء استعمال الميكروسكوب ، ولذلك يفضل استخدام الميكروسكوب ذو العينين Binocular microscope

نظرية الميكروسكوب :

عند وضع التحضير على مسرح الميكروسكوب فى مسار الضوء وضبط الميكروسكوب يكون التحضير على بعد أكثر قليلا عن البعد البؤرى للعدسة

شــكل ٤



كيفية تكوين صورة التحضير الميكروسكوبي

سه : عدسة شيئية . ع : عدسة عينية . ب : بؤرة العدسة الشيئية

ا : التحضير . ا1 : صورة مكبرة حقيقية . ا2 : صورة مكبرة تقديرية

ا3 : صورة التحضير على شبكية العين

الشيئية ، ولذا فان الاشعة الضوئية المـارة على التحضير تتجمـع بعـد العدسة مكونة صورة مكبرة حقيقية مقلوبة للتحضير (شكل ٤) ، وتكون تلك الصورة على بعد أقل من البعد البؤرى للعدسة العينية للميكروسكوب ولذا فان الاشعة الساقطة منها على العدسة تخرج متفرقة وتكون صـورة تقديرية تظهر قرب مستوى مسرح الميكروسكوب ٠

اننا ننظر بالعين عند العدسة العينية وتوجد نقطة معينة فوق عينية الميكروسكوب بقليل تسمى النقطة العينية للميكروسكوب وعندها تستقبل العين ـــ عدسة العين عبارة عن عدسة بسيطة وشبكية العين حاجز استقبال للصورة ـــ مخروط الاشعة المكونة للصورة وتكون على شبكية العين صورة ذات حجم معين يراها الفاحص عند مستوى مسرح الميكروسكوب ٠ ويلاحظ أن وضع الصورة المتكونة يكون كالوضع الطبيعى للمرئى بينما تظهر للعين مقلوبة (اتجاه حركة المرئى يكون عكسيا) وحجمها هو نفس الحجم المتكون عند استقبالها على حاجز استقبال على بعد ٢٥ سم من العينية ٠

خـــواص الشيئيات :

١ ـــ التكبير Magnification

يجب أن يكون التكبير كافيا للتمييز بين الدقائق الصغيرة التى تبعد عن بعضها مسافات لا تقل عن ٠٫٠٧ مم ٠

ويتوقف تكبير الصــورة على تكبير العــدسات الشــيئية والعينية المستعملة وهى تساوى حاصــل ضرب تكبير العــدستين فاذا كان تكبير العينية ١٠ مرات والشيئية ١٠ مرات يكون التكبير النهائى ١٠×١٠=١٠٠ مرة ، واذا كان تكبير الشيئية ٤٠ مرة يكون التكبير النهائى ١٠×٤٠=٤٠٠ مــــرة ٠

المسافة الفعالة Working distance

وهى المسافة المحصورة بين العدسة الشيئية وغطاء الشريحة . وتكون هذه المسافة واسعة نسبيا (٧ مم) عند استخدام العدسة الشيئية الصغيرة ، بينما تصبح هذه المسافة ١٣ر٠ مم فى حالة استخدام العدسة الشيئية الكبرى ، وعلى ذلك يلزم اتخاذ الحرص وخاصة عند استخدام الشيئية الكبرى حتى لا تتلف العدسة .

العمق البؤرى Depth of focus

العمق البؤرى هو المدى العمودى لمنطقة البؤرة ، وهذا المدى يقل بزيادة قوة التكبير للعدسة الشيئية ويظهر ذلك عند فحص خلايا نباتية بالشيئية الصغرى حيث يمكن رؤية السطحين العلوى والسفلى وبدون تحريك الضابط الدقيق حيث يقع سطحى الخلية فى مجال بؤرى واحد ، بينما فى حالة استخدام الشيئية الكبرى فاننا لا نرى السطحين فى مجال بؤرى واحد ، ويلزم فى هذه الحالة تحريك الضابط الدقيق لرؤية أحد السطحين وتحريكه مرة أخرى لرؤية السطح الاخر حيث يقع كل سطح فى مجال بؤرى مختلف .

قوة تمييز المرئى Resolution

قوة تمييز المرئى هو قدرة العدسات الشيئية على التوضيح والتفرقة بين نقطتين متقاربتين كشيئين مميزين وليس كشىء واحد غير واضح . والعدسات ذات قوة التمييز الضعيفة تظهر الكروموسوم الدقيق كأنه خيط واحد بينما العدسة ذات قوة التمييز القوية تظهره على حقيقته بصورة خيطين ملتفين على بعضهما ، وعلى ذلك فان فائدة الميكروسكوب ليست

فى قدرته على التكبير بقدر ما فى قدرته على التمييز بين المرئيات المتقاربة •
وتتوقف قوة التمييز على خاصية الفتحة العددية Numerical aperture(N.A.)
وطول الاشعة الضوئية المستعملة ، وكلما كانت الفتحة العددية أكبر كلما كانت قوة التمييز بين المرئيات المتقاربة أكثر وتفاصيلها أوضح•

ويمكن حساب الفتحة العددية بالمعادلة الآتية :

الفتحة العددية $(N.A.) = \mu \sin \frac{\theta}{2}$

حيث أن θ = زاوية مخروط الاشعة الواصل الى العدسة الشيئية •
μ = معامل انكسار الضوء للوسط الذى تسير فيه الاشعة بين العدسة الشيئية وغطاء الشريحة •

وأكبر زاوية ممكنة لمخروط الاشعة هى ١٨٠° (وجا) (sin) نصف هذه الزاوية ، أى جا ٩٠° = ١ • فاذا كان الوسط الذى تسير فيه الاشعة بين العدسة الشيئية وغطاء الشريحة هو الهواء ومعامل الانكسار μ = ١ فان الفتحة العددية تساوى نظريا ١ ، ولكن عمليا فان أعلى قيمة الفتحة العددية التى نحصل عليها هى ٩ر• باستعمال شيئيات جافة أى أن الفاصل بين الشيئية والشريحة هو الهواء ، ولكن يمكن زيادة قيمة الفتحة العددية اذا استعمل زيت السيدر حيث أن معامل انكسار الضوء خلاله كالزجاج تقربا أى أن الضوء يمر خلال الشريحة الى الشيئية مارا بالزيت دون أن يعتريه أى انكسار ، وقد وجد أن قيمة الفتحة العددية تصبح ٤ر١ عندما يستعمل السيدر ، ولذلك يستخدم زيت السيدر لفحص التحضيرات البكتيرية لدقة حجم الخلايا وتجمعاتها ، كما يستخدم لذلك عدسة شيئية قوة تكبيرها ٩٥ مرة (×95)

ولا تتوقف قدرة العدسة الشيئية على تمييز المرئى على الفتحة فقط

ولكن على طول الموجه الضوئية المستعملة وعلى وجود المكثف أيضا ، ففى حالة وجود مكثف واستعمال عدسة شيئية ذات فتحة عددية = ١ واستعمال ضوء أخضر مزرق طول موجته ٠٫٠٠٠٥ مم تحسب قوة التمييز للعدسة الشيئية كالآتى :

قوة التمييز للعدسة الشيئية المستعملة .

$$= \frac{\text{طول موجة الضوء}}{\text{٢} \times \text{قيمة الفتحة العددية}} = \frac{\text{٠٫٠٠٠٥}}{\text{٢} \times \text{١}} = \text{٠٫٠٠٠٢٥ مم}$$

أما فى حالة عدم وجود مكثف فتكون قوة التمييز

$$= \frac{\text{طول موجة الضوء}}{\text{قيمة الفتحة العددية}} = \frac{\text{٠٫٠٠٠٥}}{\text{١}} = \text{٠٫٠٠٠٥ مم}$$

ومعنى ذلك أنه فى حالة وجود خليتين بكتيريتين يمكن التمييز بينهما باستعمال هذه الشيئية اذا بعدا عن بعضهما بمسافة ٠٫٠٠٠٢٥ مم فى حالة وجود مكثف ، أو اذا بعدا عن بعضهما بمسافة ٠٫٠٠٠٥ مم فى حالة عدم وجود مكثف .

توافق العدسات الشيئية Parfocalization

ذكر سابقا عند تمام ضبط التحضير بالشيئية الصغرى (10×) أنه يمكن الفحص بالقوة الكبرى (× 40) عن طريق ادارة القطعة الانفية ورؤية التحضير ،ويقال فى هذه الحالة بأن هناك توافق بين الشيئيتين Parfocal ، أما اذا لم تكن رؤية تفاصيل التحضير واضحة بعد ادارة القوة الكبرى واحتاج الامر الى استعمال المحرك الدقيق لاعادة

الضبط فلا يكون هناك توافق بين الشيئيتين ، ويسبب عدم التوافق بين الشيئيتين كسر أغطية الشرائح وخدش العدسات •

العينيات Oculars (Eyepieces)

عند استعمال عدسة شيئية معينة يلزم معرفة العدسة العينية المناسبة لها للحصول على أفضل تمييز للمرئى • وتتفاوت العدسات العينية فى قوة تكبيرها ولكن أكثرها استعمالا هى قوة تكبير (× 10) ، وهناك حد أعلى لقوة تكبير العينية يمكن استعمالها مع شيئية للحصول على أفضل تمييز فمثلا فى حالة استعمال شيئية قوة تكبيرها (× 45) والفتحة العددية لها ٧ر• فان أعلى تكبير للعينية يمكن حسابها من المعادلة الاتية :

$$\text{أعلى تكبير للعينية} = \frac{\text{١٠٠٠} \times \text{قيمة الفتحة العددية للشيئية المستعملة}}{\text{قوة تكبير الشيئية}}$$

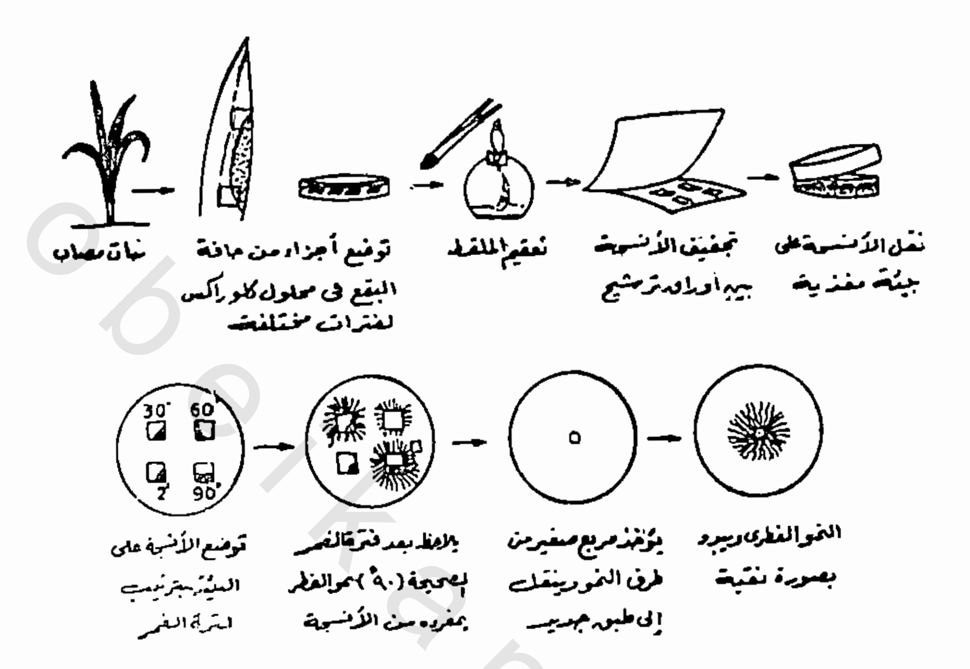
$$= \frac{\text{١٠٠٠} \times \text{٧ر٠}}{\text{٤٥}} = \text{١٥}$$

أى أنه عند استعمال شيئية قوة تكبيرها ٤٥ لا يجدى معها استعمال عينية قوة تكبيرها أكبر من (× 15) للحصول على أوضح تمييز للمرئى •

عـــزل المسبب المـرضى

ISOLATION

غالبا ما ينتج المرض النباتى من مسبب مرضى طفيلى واحد أو أكثر وفى كثير من الاحوال يمكن الحصول على هذا المسبب المرضى عن طـريق العزل فاذا كان المسبب فطرا متجـرثما على سـطح العـائل ، على هيئة مسحوق من الجراثيم أو مكونا لتركيبات ثمرية فيمكن الحصول على مزرعة من هذا الفطر عن طريق لمس الجراثيم أو التقاط التركيب الثمرى المتكون بواسطة ابرة معقمة غمست أولا فى كحول ٩٥٪ ثم عرضت للهب ، ويمكن الاستعانة بعدسة يد أو اجراء ذلك تحت القوة الصغرى للميكروسكوب ذو العينيتين ، ثم يمرر طرف الابرة على سطح بيئة مغذية صلبة معقمـة فى أطباق بترى • واذا كان المسبب غير متجرثم وغير مرئى على سطح الورقة المصابة مثلا ، تؤخذ أجزاء صغيرة تتراوح من ٥ــ١٠ مم٢ من حافة البقعة المصابة بحيث تشمل جزء مصاب وجزء سليم ظاهريا (شكل ٥) • تعقم هذه الاجزاء سـطحيا وذلك بغمـرها فى محـلول ١٪ من هيبوكلـوريت الصوديوم (يعرف تجاريا باسم كلوراكس Chlorox) لفترات مختلفة ½ و ١ و ١½ و ٢ دقيقة ، ثم تنقل قطعة تلو الاخرى بواسـطة ملقط معقم الى سطح ورق ترشيح نظيف لتجفيفها ثم تنقل الى سطح بيئة مغذية فى أطباق بترى بمعدل ٣ــ٥ قطع/طبق • يلاحظ أن الاجزاء التى تم تعقيمها لاقصر فترة تحتوى عادة على كائنات ملوثة بجانب المسبب المرضى بينما تلك التى عقمت لاطول فترة لا تنتج أى نمو حيث يكون المطهر السطحى قد قضى على جميع الكائنات ، أما الاجزاء التى عرضت لفترة متوسطة فانهـا تسمح بنمو المسبب المرضى على هيئة مستعمرات نقية ظاهريا حيث تكون هذه الفترة كافية للمطهر للقضاء على الكائنات الملوثة ولكن ليست كافيـة



• شكل ٥ • عزل المسببات الفطرية من الأنسجة النباتية المصابة

لقتل المسبب المرضى الذى يكون ناميا بمفرده من داخل النسيج المصاب الى النسيج السليم • يؤخذ جزء طرفى من المستعمرة وتنقل — تحت ظروف معقمة — الى سطح بيئة مغذية فى طبق بترى آخر لدراسة المسبب المرضى •

ويمكن عزل المسببات المرضية بسهولة من داخل السيقان والثمار وذلك بشق الساق طوليا أو قطع الثمرة من الجانب السليم أولا باستخدام سلاح معقم وذلك بعد تعقيم الجزء النباتى تعقيما سطحيا واستمرار القطع نحو الحافة المصابة وتجاوزها مع عدم التعرض للكائنات الملوثة أو لمسها باليد أو المشرط • تؤخذ أجزاء صغيرة من الحافة المصابة بحيث تشمل الاجزاء المقطوعة أنسجة مصابة وأنسجة سليمة وتوضع مباشرة على سطح البيئة المغذية •

أما العزل من الجذور الدرنية والدرنات والكورمات وثمـار الخضر الملاصقة للتربة والتى تكون قد تعرضت للتلويث بكائنات رمية عديدة بعد أن تكون أنسجتها قد قتلت بالمسبب المرضى ، فيلزم أولا غسلها جيدا بالماء لاستبعاد حبيبات التربة وأنسجة النبات المتآكلة التى تحتوى على معظم الرميات ، واذا كان الجذر صغيرا فتتبع نفس خطوات العزل من الاوراق وذلك بعد غسله جيدا بالمـاء ، واذا كانت الانسجة طرية وكانت الاصابة سطحية يغسل النسيج بالمـاء وتؤخذ منه أجزاء صغيرة وتغمر فى محلول كلوراكس وتنقل قطعة تلو الاخرى الى ورق ترشيح ثم على سطح الاجار فى أطباق بترى ، أما اذا كانت الاصابة عميقة داخل الانسجة الطرية فتتبع خطوات العزل كما ذكرت فى حالة السيقان والثمار •

ومعظم الفطريات والبكتيريا تنمو على بيئات مغذية بسهولة ، الا أن البعض لا ينمو على بيئات مغذية مثل فطريات البياض الزغبى وفطريات البياض الدقيقى فهى فطريات اجبارية التطفل لا تنمو الا على عـوائلها النباتية • كما أن بعض المسببات المرضية الاخرى مثل الكائنات الشبيهة بالميكوبلازما والبكتيريا الشبيهة بالركتـيزيا والفـيروسـات والنيماتودا والبروتوزا لم يمكن تنميتها على بيئات مغذية حتى الان ولو أن من المتوقع قريبا اكتشـاف بيئات لتنمية الـكائنات الشبيهة بالميكوبـلازما والبكتيريا الشبيهة بالركتيزيا •

المـزارع النقية للفطريات

PURE CULTURES

تعدالمزرعة نقية اذا نتجت من جـرثومة مفـردة Single spore أو من طرف هيفا hypha tip • وهناك طرق عديدة للحصـول على

مزارع نقية ، ففى الفطريات التى تكون جراثيم تتبع بعض الطرق للحصول على جرثومة مفردة ، أما فى الطريات التى لا تكون جراثيم أى الفطريات العقيمة فتتبع طريقة الحصول على طرف هيفا ، ومن أسهل تلك الطرق ما يأتى :

طرق الحصول على جرثومة مفردة :

١ — يعمل تخفيف من معلق الجراثيم وذلك بنقل كتلة صغيرة من النمو الفطرى الى أنبوبة بها ماء معقم • ترج الانبوبة بين اليدين • تعمل تخفيفات فى أنابيب بها ماء معقم الى أن نحصل على تخفيف لا يزيد فيه عدد الجراثيم فى نقطة الماء المحمولة على الابرة ذات العقدة عن جرثومة واحدة وذلك بوضعها على شريحة زجاجية وفحصها بالميكروسكوب • تنقل عدة نقط بواسطة الابرة الى أطباق بترى بها آجار مائى وتفحص ميكروسكوبيا • تعلم النقط التى تحتوى على جرثومة واحدة وذلك من أسفل الطبق • توضع الاطباق فى حضان لفترة عدة ساعات الى أن تنبت الجراثيم ثم تنقل الجراثيم المنبتة الى بيئة مغذية فى أطباق أو الى آجار مائل فى أنابيب •

٢ — تفيد هذه الطريقة فى عزل جراثيم مفردة للفطريات ذات الجراثيم الداكنة اللون • يعمل تخفيف من معلق الجراثيم فى بيئة آجار مائى مسال • تسحب البيئة الى أنابيب شعرية معقمة وتترك قليلا الى أن تتجمد داخل الانابيب • تفحص الانابيب تحت الميكروسكوب فتظهر بها الجراثيم مفردة ومتباعدة • يطهر جدار الانبوبة الشعرية سطحيا بكحول ٩٥٪ ثم تكسر الانبوبة لاخذ الاجزاء التى بها جراثيم فردية وتنقل تلك الاجزاء الى بيئة مغذية فى أطباق تبرى وتحضن • تنبت الجراثيم وتظهر أنابيب الانبات من نهايات القطع الشعرية وتكون مستعمرات •

طريقة الحصول على طرف هيفا :

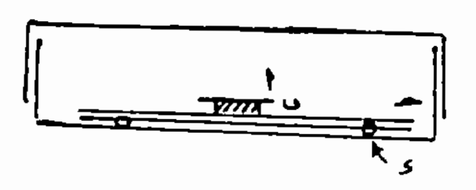
تصب بيئة الآجار المائى فى أطباق تبرى معقمة وقبل أن تتجمد البيئة توضع حلقة زجاجية (مجهزة من أنبوبة اختبار بعد تقطيعها الى حلقات بسمك ٤ــ٥ مم) معقمة فى مركز الطبق • بعد أن تتجمد البيئة يوضع جزء صغير من الفطر فى مركز الحلقة وعندما ينمو الفطر يملأ مساحة الحلقة ويتسلق جدار الحلقة ويستمر فى النمو خارجها وهذا مما يساعد على تباعد الهيفات عن بعضها • يقطع مربع من البيئة حول طرف هيفا وذلك تحت القوة الصغرى للميكروسكوب بواسطة مشرط حاد معقم وينقل الى طبق آخر أو أنبوبة بها بيئة آجار مائل •

التجرثم فى الفطريات

SPORULATION IN FUNGAL CULTURES

وجد أن تعريض المزارع الفطرية للاشعة القريبة من فوق البنفسجية يساعد على زيادة تجرثم كثير من الفطريات ، ولذلك تستخدم هذه الطريقة فى الوقت الحاضر فى معظم معاهد الفطريات فى العالم • يستخدم لهذا الغرض لمبات تشبه لمبات الفلورسنت العادية فى طولها (١٢٠ سم) ولذلك تصلح حوامل اللمبات الفلورسنت لتركيب لمبات الاشعة القريبة من فوق البنفسجية • تعطى تلك اللمبات أشعة ذات موجه تتراوح من ٣١٠٠ــ٤١٠٠ أنجستروم • تستخدم الاطباق البيركس أو الاطباق البلاستيك عند تعريض المزارع الفطرية لتلك الاشعة حيث يسمح الزجاج البيركس أو البلاستيك بنفاذ كمية كبيرة من تلك الاشعة خلالها • تعرض المزارع الفطرية عادة لمدة ١٢ ساعة للاشعة القريبة من فوق البنفسجية تتبادل مع ١٢ ساعة ظلام يوميا ، ويتم الفحص بعد عدة أيام تبعا لسرعة نمو الفطريات • يفضل ضبط درجة حرارة غرفة الاشعة على ٢٠°م ، ويراعى الاحتراس عند استخدام تلك الاشعة حيث أنها قد تسبب بعض الاضرار للعين والجلد •

وللتعرف على الفطريات قد يكتفى فى بعض الحالات بشكل الجراثيم ولكن فى حالات أخرى ــ وخاصة اذا أريد معرفة النوع ــ يلزم تتبع مراحل نمو الجراثيم والحوامل الجرثومية وطريقة التصاق الجراثيم بالحوامل الجرثومية ، ولفحص التركيب الكامل للفطر يمكن تحضير مزرعة شريحية Slide culture (شكل ٦) وذلك بأن يسمح للفطر بالنمو على طبقة رقيقة من الاجار بين الشريحة وغطاء الشريحة • ينقل مكعب صغير ٣×٣×٣ مم من بيئة مغذية مثل آجار البطاطس والدكستروز



شكل ٦ . مزرعة شريحية
ا- غطاء شريحة ب- أسطوانة من الآجار.
حـ - شريحة زجاجية ء- قضيب زجاجى.

أو آجار المولت على منتصف شريحة زجاجية معقمة بالكحول . يلقح مكعب البيئة من جوانبه الاربعة بكمية قليلة من الفطر المراد التعرف عليه . يغطى المكعب بغطاء شريحة معقم أيضا بالكحول وتنقل الشريحة الى طبق بترى معقم به ثلاث أوراق ترشيح مبللة بالماء المعقم والجلسرين (٢٠٪) ، وترفع الشريحة عن أوراق الترشيح المبللة بواسطة قضيبين زجاجيين قصيرين . يغطى الطبق ويحفظ فى درجة حرارة الغرفة . تعمل عدة مكررات لكل فطر . تفحص الشريحة كل يومين تحت القوة الصغرى للميكروسكوب لتتبع تكوين الحوامل الجرثومية والجراثيم . بعد تمام تكوين الحوامل والجراثيم وفحصها يمكن أيضا الاحتفاظ بها مدة طويلة . يمكن عمل تحضيرين الاول من غطاء الشريحة والاخر من الشريحة . ينقل غطاء الشريحة — الذى يكون الفطر ناميا عليه أيضا — الى شريحة أخرى عليها نقطة من اللاكتوفينول الابيض أو الملون . يرفع مكعب البيئة من الشريحة بواسطة ملقط معقم وتوضع نقطة من اللاكتوفينول الابيض أو الملون مكانه ثم يوضع غطاء شريحة نظيف . يعمل تشميع حول غطاء الشريحة — فى كل تحضير — بواسطة مستحضر طلاء الاظافر .

حفـظ المـزارع الفطرية

MAINTENANCE OF FUNGAL CULTURES

يتطلب عزل الفطر وتنقيته والتعرف عليه ــ وخاصــة الى النوع ــ كثير من الوقت والجهد والخبرة ، وقد يستدعى ذلك أيضــا ارســاله الى معاهد الفطريات المتخصصة بالخارج ممــا يستحق الاحتفاظ بمجمــوعة الفطريات المسماة لاغراض البحث والتدريس • وتوجد طرق عديدة لحفظ المزارع الفطرية تتباين فى طول فترة الحفظ وفى توفر الاجهــزة الــلازمة والملاءمة للانواع المختلفة من الفطريات ، وتتلخص تلك الطرق فيما يأتى :

١ ــ الحفظ فى أنابيب فى درجة حرارة الغرفة :

تلقح أنابيب الآجار المــائل بالفطــريات وتحفظ الانابيب فى دولاب خشبى أو معدنى ولكن من عيوب هذه الطريقة سرعة جفاف المزارع الفطرية مما يستدعى تجديدها باستمرار على فترات متقاربة •

٢ ــ الحفظ فى الثلاجة أو غرفة باردة (٥ــ٨°م) تشــبه الطــريقة السابقة وتستدعى تجديد المزارع الفطرية كل ثلاثة أو أربعة شهور •

٣ ــ الحفظ تحت زيت معدنى :

تغطى المزارع الفطرية النامية على آجار مائل فى أنابيب بزيت معدنى معقم (فى الفرن على درجة حرارة ١٥٠°م لمدة ٣ ساعات) • بعد أن يبرد الزيت يغطى سطح الاجار ويرتفع عنه بحوالى سنتيمتر • تغطى الانابيب بسدادات فلينية ثم بشمع البرافين • تتميز هذه الطريقة برخص تكاليفها وعدم تلوث المزارع بالحلم ولا تتطلب أجهزة مرتفعة التكاليف •

٤ ــ الحفظ فى التربة :

توضــع تربة فى أنابيب اختبــار الى نصــف حجمهــا ، وتعقم فى

الاوتوكلاف • يصب عليها معلق الجراثيم وتترك فى درجة حرارة الغـــرفة لمـــدة ٧ـــ١٠ أيام ثم تحفظ فى الثلاجة لمدة طويلة دون تغيير فى حيويتها • تفيد هذه الطريقة فى حفظ مزارع فطر Fusarium spp.

٥ ــ الحفظ فى درجة حرارة تجمد منخفضة (ــ ٢٠°م) deep freeze

وفى هذه الطريقة يمكن أن تعيش الفطريات مدة طويلة دون تلوث •

٦ ــ الحفظ بالتجفيد Freeze drying or Lyophilization

توضع المزارع الفطرية أو معلق الجراثيم فى أنابيب زجاجية صغيرة بها لبن خال من الدهن ، ويتم تجفيف المزارع أو معلق الجراثيم وهى فى حالة تجمد (ــ ٢٥°م) وذلك بسحب بخار المـــاء تحت ضغط منخفـــض • تصهر فوهة الانبوبة الزجاجية ليتم غلقها وتصبح بشكل أمبـــولة وبذلك يستبعد احتمال أى تلوث • الجهاز المستخدم فى التجفيد معقـــد وباهـــظ التكاليف ولكن الفطريات التى تتحمل تلك المعاملة يمكنها أن تعيش لفترة تتراوح من ٥ـــ١٠ سنوات • لا تستخدم هذه الطريقة فى حفظ فطـــريات *Pythium* و *Phytophthora* حيث أنها لا تتحمل تلك المعاملة •

٧ ــ الحفظ باستخدام النتروجين السائل Liquid nitrogen

تحفظ المزارع الفطرية ومعـــلقات الجـــراثيم فى جلسرين ١٠٪ فى أمبولات زجاجية وتجمد تحت درجة حرارة منخفضـــة كثيرا (ــ ٩٦°م) باستخدام النتروجين السائل ، والفطريات التى تتحمل تلك الدرجـــة من التجمد يمكنها المعيشة حية لفترة غير محدودة • تتطلب هـــذه الطـــريقة استخدام جهاز معين مرتفع التكاليف ومصدر لامداد النتروجين السائل •

العــدوى الصــناعية

ARTIFICIAL INOCULATION

قد لا تكفى الاعراض الظاهرية للتعرف على المرض ، فلا يكفى وجود كائن ما مصاحبا للمرض للتأكد من كونه المسبب الاصلى للمرض فقد يكون كائنا رميا أو طفيلا ضعيفا ثانويا ، ولاثبات أن هــذا الكائن هــو المسبب الاصلى للمرض يجب تتبع فروض كــوخ Kock's way of proof للتعرف على المرض المعدى وتتلخص فى الآتى :

١ ــ يجب أن تكون الاعراض مصحوبة دائما بوجود طفيل •

٢ ــ يجب عزل الطفيل فى مزرعة نقية على بيئة مغذية خالية من أى تلوث •

٣ ــ يستعمل الطفيل المعزول فى عدوى نباتات سليمة قابلة للاصابة ويلزم الحصول على نفس الاعراض السابقة •

٤ ــ يعاد عزل الطفيل من النباتات المعدية صــناعيا ويجب أن يكون الطفيل المعزول ثانية مطابقا تماما للطفيل المعزول أولا •

وتتوقف الطرق المستخدمة فى عمل العدوى الصناعية على نوع الكائن الممرض والعائل المختبر وطريقة احداث العدوى وطبيعة المرض ، وتتلخص طرق العدوى فى الآتى :

١ ــ العدوى بواسطة التربة :

تستخدم هذه الطريقة فى حالة الامراض التى تنتقل عن طريق التربة مثل موت البادرات والذبول ، وفى هذه الحالة يضاف الى التربة جــزء من نمو الطفيل معلقا فى بيئة سائلة أو ماء بعد تقطيعه فى خلاط ثم زراعة العائل المراد اختبار قابليته للعدوى فى تلك التربة •

٢ ــ تلويث البذور :

تلوث البذور بمسحوق الجراثيم الجاف وتستخدم هذه الطــريقة فى حالة أمراض التفحم المغطى فى القمح والشعير •

٣ ــ عدوى الاوراق والسيقان :

تلقح الاوراق بجراثيم الفطر بطريقة الرش أو الدهان بفرشـــاة أو تعفير جراثيم الفطر الجافة مثل جــراثيم الصـــدأ ، أو بالحقن فى حالة الامراض البكتيرية الجهازية ، كما يستخـــدم خشب تسـليك الاســنان tooth - pick بعد غمسها فى معلق من خلايا البكتيريا أو جراثيم الفطر، وتوخز بها النباتات وتترك داخلها وتغطى النباتات المعامــلة بأكيــاس من البولى ايثيلين لتوفير الرطوبة الكافية • وفى السوق الدرنية مثل البطاطس يعمل ثقب بواسطة ثاقب الفلين وينزع قطعة من النسيج النباتى ثم تلقح بجزء من مزرعة الفطر ويعاد الجزء المنزوع الى وضعه الاصلى •

٤ ــ عدوى الازهار :

تجرى هذه الطريقة فى حالة التفحم السائب فى القمح والشعير ومرض الارجوت حيث تعفر الازهار بجراثيم الفطر أو تحقن بها •

٥ ــ العدوى الميكانيكية :

يؤخذ عصير من أوراق نبات مصاب تظهر عليه الاعراض بوضـــوح ويرشح ويجفف ثم تعفر نباتات حديثة السن ذات أوراق نظيفـــة جافـــة بمسحوق الكاربوراندم ويحك السطح العلوى للاوراق بخفـــة بالعصـــير المستخلص من النباتات المصابة •

٦ ــ العدوى بالتطعيم :

ينقل أى فيروس نباتى عن طريق التطعيم اذا كان هناك توافق بين الاصل والطعم •

٧ ــ العدوى بواسطة النباتات الزهرية المتطفلة :

تنقل بعض الفيروسات النباتية من نباتات مصابة الى أخرى سليمة بواسطة الحامول وفيها تعدى النباتات المصابة بفيروس معين بواسطة خيوط نبات الحامول ، وبعد نمو الحامول جيدا تقطع جميع خيوط الحامول التى عليه ويستبقى فقط اثنين منها ثم نجعلها تلامس نباتات أخرى من نفس النوع حديثة السن ، وبعد أن تصيب هذه الخيوط النباتات المعدية (بعد ٢ــ٤ أيام) تزال أوراق النبات المعدية ، واذا نجحت العدوى فان الاوراق الجديدة تظهر أعراض المرض •

٨ ــ العدوى بواسطة الحشرات :

يتم ذلك تحت ظروف محكمة ، ويكون ذلك باختيار النبات العائل ونوع الحشرة والظروف البيئية ، وتختلف تلك الظروف تبعا لنوع الفيروس المراد نقله ، فتنقل كثير من فيروسات أمراض التبرقش بواسطة حشرة المن ، وتنقل نطاطات الاوراق أمراض الميكوبلازما غالبا ، وينقل التربس والذباب الابيض والبق الدقيقى فيروسات أخرى • ويتم ذلك بواسطة الحشرات المختبرة فى أقفاص بها النبات العائل المريض ، وبعد فترة تغذية مناسبة للحشرات تنقل تلك الحشرات فى أقفاص أخرى بداخلها النباتات المراد اختبارها ثم تفحص هذه النباتات دوريا لمعرفة حدوث العدوى لها وبالتالى معرفة دور الحشرة الفعال فى نقل المرض •

كما تتطلب دراسة كثير من الامراض النباتية تحديد احتياجات كل منها من العوامل البيئية المختلفة كالحرارة والرطوبة والضــوء حتى يمكن التعرف على الظروف البيئية التى توافق تكشف المرض أو الحد من انتشاره فى الطبيعة ، كما أن بعض مسببات الامــراض الاجبارية التطفل لا يمكن تنميتها على النبات العائل القابل للاصابة بها والذى يعد فى هذه الحــالة بمثابة بيئة طبيعية حية تستخدم فى تجهيز مزارع الطفيل التى تســتلزمها الدراسة مثل الاصداء والبياض الدقيقى والامراض الفيروسية •

الباب الثالث

مسببات الامراض النباتية

الفطـــــريات

تتبع الفطريات المملكة FUNGI والنظريات التى سنقوم بدراستها تتبع قسم DIV. EUMYCOTA ، ويمكن التعرف على تحت أقسام وصفوف الفطريات المسببة لامراض النبات باتباع الجدول الاتى :

I - سيليوم غير مقسم بجدر مستعرضة :

١ ـ تكاثر لاجنسى بجراثيم هدبية داخل كيس سبورانجى
تكاثر جنسى يتزاوج أعضاء جنسية متميزة
وينتج عنه تكوين جراثيم بيضية CL. OOMYCETES

٢ ـ تكاثر لاجنسى بجراثيم غير متحركة داخل كيس سبورانجى
تكاثر جنسى بتزواج أعضاء جنسية متشابهة
وينتج عنه تكوين جراثيم زيجوية CL. ZYGOMYCETES

II - سيليوم مقسم بجدر مستعرضة :

١ ـ يتكون جراثيم جنسية (أسكية) داخل أكياس اسكية
Sub. Div. ASCOMYCOTINA

(أ) تتكون أكياس اسكية عارية CL. HEMIASCOMYCETES

(ب) تتكون أكياس اسكية داخل ثمار اسكية تعفله
CL. PLECTOMYCETES

٢ ـ تحمل الجراثيم الجنسية (بازيدية) خارج حوامل بازيدية
Sub Div. BASIDIOMYCOTINA

(أ) الحامل البازيدى مقسم ينشأ من انبات جرثومة تيليتية .
تنبت الجرثومة البازيدية وقد تنتج جراثيم بازيدية أخرى
أو تتبرعم أو تتكون جراثيم كونيدية

CL. TELIOMYCETES

(ب) الحامل البازيدى غير مقسم وينشأ من الميسيليوم مباشرة
تنبت الجرثومة البازيدية وتنتج سيليوم

CL. HYMENOMYCETES

٣ ـ الجراثيم الجنسية غير معروفة

Sub. Div. DEUTEROMYCOTINA

الفصـــل الاول

صـــف الفطريات البيضية

CLASS OOMYCETES

تعيش فطرياتها فى التربة وتتطفل على النباتات وتسبب لها أمراضا .

يوجد بها رتبة واحدة وهى رتبة بيرونوسبورات Order Peronosporales.

تمتاز هذه الرتبة بجراثيم متحركة ذات هدبين ، وتنقسم الى ثلاث عائلات كالآتى لا

١ ــ لا تتميز حوامل الاكياس الجرثومية عن الهيفات

Family Pythiaceae

٢ ــ تتميز حوامل الاكياس الجرثومية عن الهيفات

(أ) تحمل الاكياس الجرثومية فى سلاسل على أطراف حوامل جرثومية صولجانية Family Albuginaceae

(ب) تحمل الاكياس الجرثومية مفــردة أو فى مجاميـــع على على أطراف حوامل جرثومية متفرعة

Family Peronosporaceae

العــائلة البيثية

Family Pythiaceae

من أهم أجنـــاس العـــائلة البيثية جنس بيثيوم *Pythium* spp. الذى يسبب مرض موت البادرات فى كثير من العائلات النباتية ، وفطـــر فيثوفثورا *Phytophthora* spp الذى يسبب مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم .

١ ــ مرض موت البادرات

Damping - off of seedlings

(أ) افحص بذور وبادرات طماطم زرعت فى تربة معقمة وعـــديت بفطر *Pythium debaryanum* ولاحظ الاطوار المختلفة من الاصابة

ابتداء من تعفن البذور قبل انباتها موت البادرات قبل ظهورها فوق سطح التربة pre-emergence damping - off وموت البادرات بعد ظهورها فوق سطح التربة

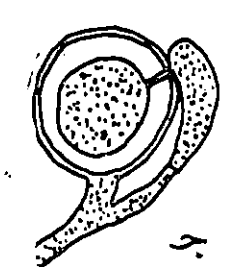
(ب) حضر شريحة من الفطر النامى فى ماء معقم به بذور كتان مغلية لمدة عشر دقائق • لاحظ وارسم تكوين الاكياس الاسبورانجية Zoosporangia وبداخلها الجراثيم الهدبية Zoospores تتبع تكوين المثانة Vesicle من الكيس الاسبورانجى وانتقال محتوياته الى المثانة ، ثم انطلاق الجراثيم الهدبية • لاحظ شكل الجراثيم وأنها ذات هدبين متساويين فى الطول تقريبا •

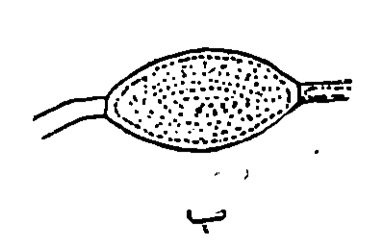
(جـ) حضر شريحة من الفطر النامى على بيئة آجار الذرة corn meal agar وافحص وارسم العضو المؤنث Oogonium الكروى الشكل وبجانبه العضو المذكر antheridium الصولجانى الشكل والذى يمتد منه أنبوبة اخصاب • لاحظ أنه قد يوجد أكثر من عضو مذكر لكل عضو مؤنث • لاحظ أيضا تكوين الجراثيم البيضية oospores السميكة الجدار (شكل ٧) •

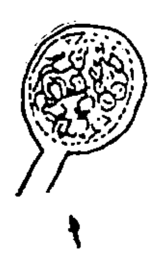
٢ — اللفحة المتأخرة فى البطاطس والطماطم

مسبب من فطر *Phytophthora infestans*

(أ) افحص أعراض المرض على وريقات البطاطس ووريقات الطماطم المصابة ولاحظ امتداد المرض من حواف الوريقات الى الداخل على هيئة بقع بنية داكنة ، كما لاحظ امتداد المرض على الساق بشكل خطوط طويلة داكنة • اقطع درنة بطاطس مصابة الى نصفين وكذلك ثمرة طماطم مصابة ولاحظ امتداد الاصابة داخلها على هيئة عفن بنى فاتح بشكل غير منتظم•







شكل ٧) فطر Pythium debaryanum

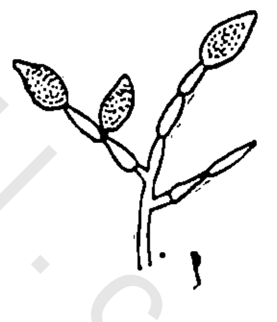
(أ) كيس اسبورانجى طرفى

(ب) كيس اسبورانجى وسطى

(ح) تكاثر جنسى







(شكل ٨) فطر Phytophthora infestans

(أ) حامل كيس اسبورانجى وأكياس اسبورانجية .

(ب) ،(ح) تكوين الجراثيم الاسبورانجية داخل الكيس الاسبورانجى .

لاحظ وجود ميسيليوم الفطر الابيض القطنى الكثيف النمو داخل تجاويف ثمرة الطماطم •

(ب) حضر سلخا من السطح السفلى لوريقات بطاطس وطماطم

مصابة ولاحظ خروج حوامل الاكياس الجرثومية من الثغور • ارسم شكل وتركيب الحامل الجرثومى والانقباضات المميزة له ، وخروجها فى مجاميع وكذلك الاكياس الجرثومية الليمونية الشكل ذات الحلمة الطرفية (شكل ٨) •

العائلة الالبيوجينية

Family Albuginaceae

تسبب أفراد هذه العائلة مرض الصدأ الابيض ومنها الصدأ الابيض فى الرجلة والصدأ الابيض فى الصليبيات •

الصدأ الابيض فى الصليبيات

مسبب من *Albugo candida*

يصيب هذا المرض نباتات العائلة الصليبية مثل الكرنب والقرنبيط واللفت ويصيب بعض الحشائش الصليبية أيضا مثل فجل الجمل *Sinapis arvensis* والقرلاء *Sysumbrium irio*

افحص نبات فجل الجمل ونبات القرلاء المصابين بالصدأ الابيض • حضر قطاعا عرضيا يمر فى بثرة واصبغه باللاكتوفينول الازرق وحمله فى غروى جاسرين وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ :

(أ) تمزق بشرة الورقة فى البثرات المتفجرة •

(ب) حوامل جرثومية قصيرة صولجانية الشكل متزاحمة ، ومتراصة عموديا تحت البشرة المزقة، يحمل كل منها على قمته عدة أكياس جرثومية فى سلسلة، ولم يتبق متعلقا بالحامل الا عدد قليل من الاكياس الجرثومية الكروية الشكل يفصلها أقراص جيلاتينية تظهر فى القطاعات المصبوغة كفواصل براقة لعدم امتصاصها الصبغة •

(ج) انتشار الميسيليوم غير المقسم بين خلايا الانسجة وارساله ممصات haustoria كروية دقيقة داخل الخلايا وبواسطتها يمكن

للفطر امتصاص الغذاء من عائله ، وهذه الممصات هى الاجزاء الوحيدة من الميسيليوم التى تخترق الخلايا وتتصل مباشرا بمحتوياتها •

(د) وجود الاعضاء الجنسية فى المسافات البينية • العضـو المؤنث oogonium كروى الشكل ، كبير الحجم نسبيا ، تتكثف محتويات عضو التأنيث الى البيضة وهى البروتوبلازم الكروى الكثيف الذى يشغل المركز، البروتوبلازم الخارجى أقل كثافة ويحيط ببروتوبلازم البيضة مبطنا لجدار عضو التأنيث • تحتوى البيضة عندما تكون مستعدة للاخصاب على نواة واحدة • العضو المذكر antheridium صولجانى الشكل أو بيضى الشكل يلتصق بالعضو المؤنث ويرسل أنبوبة اخصـاب تخترق جـدار العضـو المـؤنث •

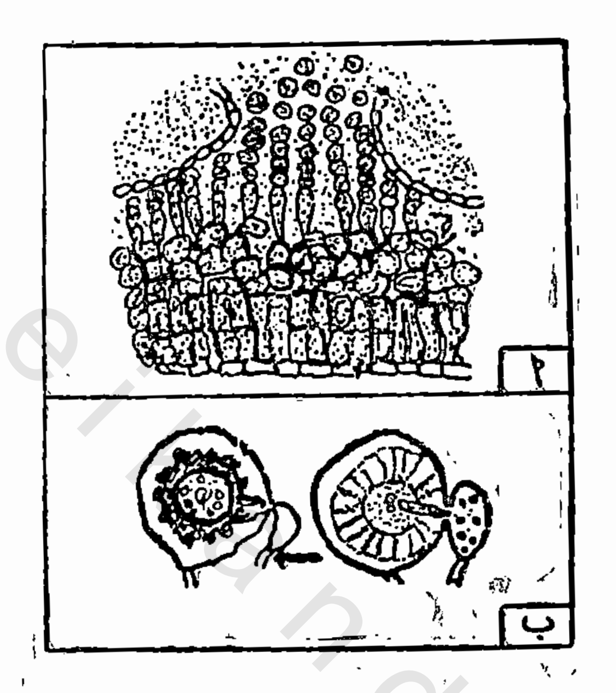
(هـ) وجود جراثيم بيضية oospores ذات جدر مدرنة غير منتظمة الشكل (شـكل ٩) •

العـائلة البيرونوسبورية

Family Peronosporoceae

تسبب أفراد هذه العائلة مجموعة من الامـراض تعرف بأمـراض البياض الزغبى Downy Mildews فيسبب فطر *Plasmopara viticola* مرض البياض الزغبى فى العنب ، وفطـر *Bremia lactucae* مـرض البيـاض الزغـبى فى الخس وفطـر *Sclerospora graminicola* مـرض البياض الزغبى فى النجيليـات وفطـر *Peronospora spp.* مرض البياض الزغبى فى النبـاتات الصـليبية وفجل الجمـل والبصـل والسبانخ وغيرها •

تتميز أمراض البياض الزغبى بصفات عامة فى الاعراض وطـريقة



شكل ٩ . فطر *Albugo candida*

أ . تكاثر لا جنسي .

ب . تكاثر جنسي (يمين) عضو مذكر وعضو مؤنث وبينهما أنبوبة إخصاب ،

(يسار) جرثومة بيضية سميكة الجدار .

التطفل داخل أنسجة عوائلها • تبدأ الاعــراض بظهور بقع خضراء باهظة على السطح العلوى للاوراق تتحول الى لون أصفر نتيجة تحلل الكلورفيل ثم الى لون بنى عند موت الانسجة ، وقد تلتحم البقع لتشمل مساحة أكبر• يظهر مقابل تلك البقع على السطح السفلى زغب أبيض أو ملون أحيانا ، ومن هنا جاء اسم المرض • تمتد الاصابة الى أجزاء خضرية أخرى عادة •

افحص أوراق العنب والخس وفجل الجمل التى حفظت لمــدة يوم واحد داخل كيس من البلاستيك أو تحت ناقوس زجاجى لتوفير رطــوبة

كافية ولاحظ تكوين الزغب الابيض بكثرة على السطح السفلى مقابل بقع السطوح العليا • حضر سلخا من كل نبات من البشرة السفلى واصبغه فى لاكتوفينول أزرق وحمله فى جلسرين وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ ما يأتى :

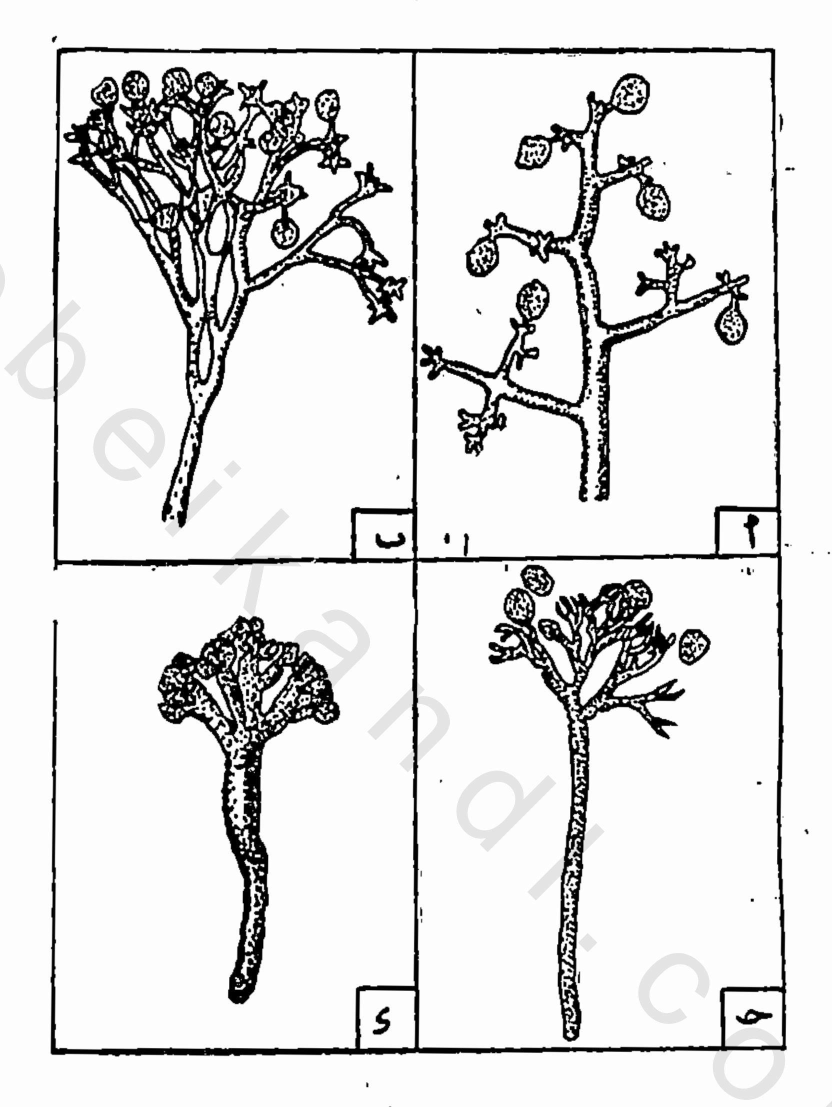
١ ــ خروج حوامل الاكياس الجرثومية من الثغور •

٢ ــ اختلاف تفرع حوامل الاكياس الجرثومية : فالتفرع وحيد الشعبة فى فطر *Plasmopara viticola* والافرع الثانوية تكاد تكون قائمة على المحور الاصلى ، ويكون التفرع ثنائى الشعبة فى فطرى *Bremia lactucae* و *Peronospora spp.,* (شكل ١٠) •

٣ ــ اختلاف شكل أطراف الحوامل الجرثومية : ففى فطر *Bremia lactucae* تكون أطراف الحوامل مفلطحة ذات ذنيبات Sterigmata (مفرد strigma) يحمل كل ذنيب كيس جرثومى بيضى الشكل (شكل ١٠) ، ينبت انباتا مباشرا ولذلك يطلق عليه كونيدة Conidium ويطلق على الحامل ، حامل كونيدى condidiophore ولذلك يعد هذا الجنس أرقى أجناس فطريات البياض الزغبى •

افحص تحضيرات مجهزة لفطر *Sclerospora graminicola* المسبب للبياض الزغبى فى النجيليات ولاحظ أن الحامل الجرثومى قصير وسميك يتفرع بالقرب من القمة الى عدة أفرع قصيرة شحمية تتفرع بدورها ويحمل كل منها كيس جرثومى مستطيل (شكل ١٠) ينبت انباتا غير مباشر •

حضر قطاعات عرضية فى ورقة مصابة من فجل الجمل واصبغه فى لاكتوفينول أزرق وحمله فى جلسرين وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ الآتى :



(شكل ١٠) فطريات البياض الزغبى

(أ) Plasmopara viticola (ب) Bremia lactucae

(حـ) Peronospora parasitica Sclerospora sp.

١ ــ امتداد الميسيليون فى المسافات البينية بين الخلايا وعدم اختراقه للخلايا نفسها ٠

٢ ــ الميسيليوم داخلى وغير مقسم بجدر مستعرضة ويرسل ممصات haustoria كروية دقيقة تخترق الخلايا وهى الاجزاء

الوحيدة من الميسيليوم التى تخترق الخلايا وبواسطتها يمتـــص الطفيل غـــذاءه •

٣ ــ وجود الاعضاء الجنسية فى المسافات البينية ، وهى تشبه التكاثر الجنسى فى الفطر *Albugo candida* الذى سبق فحصه •

٤ ــ وجود الجراثيم البيضية oospores فى المسافات البينية وهى كروية ذات لون بنى مصفر وجدار سميك أملس أو مجعد قليلا غير ملتحم بجدار العضو المؤنث •

الفصــــل الثــــانى

صــف الفطــريات الزيجوية

Cl. ZYGOMYCETES

رتبــة ميوكــورات

Or. Mucorales

فطريات هــذه الرتبة معظمها رميــات • تتمــيز بتكوين جــراثيم سبورانجية غير متحركة sporangiospores غير متحركة داخل أكياس سبورانجية sporangia ، ومن الرميات الشائعة فطر عفن الخبز الذى يتبع العائلة الميوكورية ، ومن الفطريات المــرضة فطر كونوفــورا الذى يتبع العائلة الكونوفورية ، وتتميز العائلتين بالآتى :

١ ــ تكوين أكياس جرثومية يوجد داخلها انتفاخ عبارة عن امتــداد لقمة الحامل الجرثومى • يفصل الانتفاخ الجراثيم عن بقية الحامل ويعرف الانتفاخ بالكوليوميلا Family Mucoraceae

٢ ــ تكوين أكياس جرثومية بها كوليوميلا وكــذلك تكوين حــوامل كونيدية تحمل أكياسا جرثومية صغيرة sporangiolae بها عدد محدود من الجراثيم Family Choanephoraceae

العــائلة الميوكــورية

Family Mucoraceae

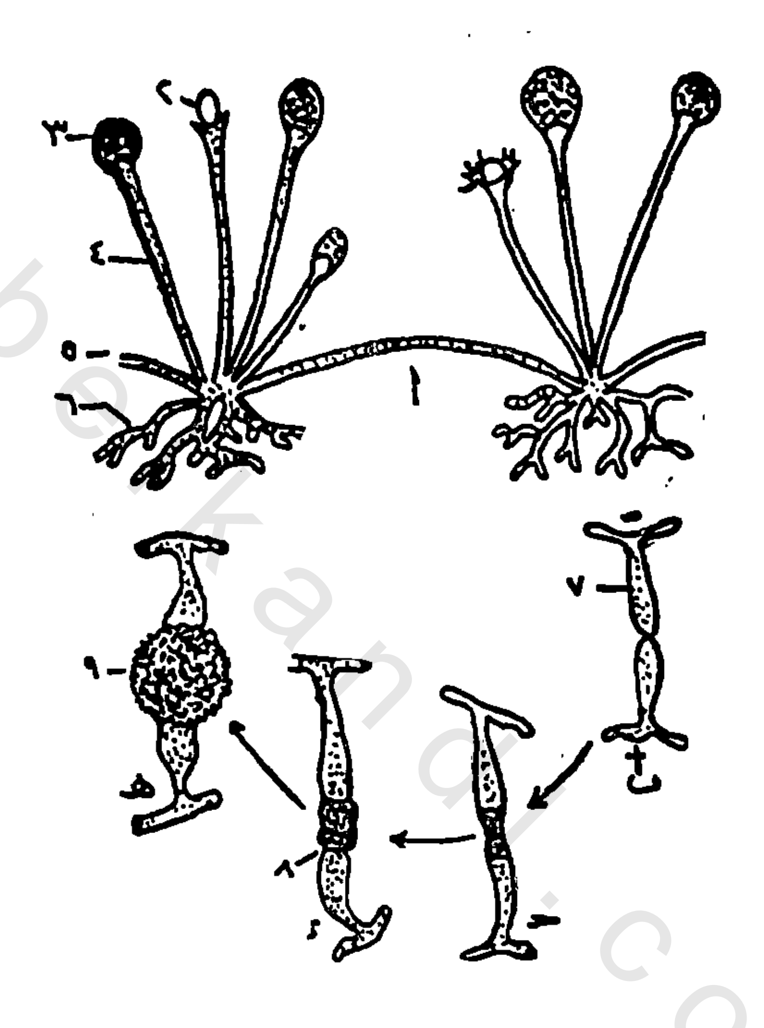
فطــــر عفن الخــبز

Rhizopus stolonifer

ينمو هذا الفطر على الخبز اذا ترك عــدة أيام وكان الجــو رطبا ، ويسبب هذا الفطر عفنا طريا لثمار كثير من الخضر والفاكهة فى الاسواق وأثناء التخزين والتصدير ، ويصيب لوز القطن بعد اصابته بديدان اللوز فيسبب تعفنها عفنا جافا وعدم تفتحها واسودادها بالداخل ، أما اذا كانت اللوزة متفتحة فيسبب تلون التيلة بلون مصفر •

جهز تحضيرا للفطر من ثمرة مصابة أو من الفطر النامى على الخبز •
حمله فى نقطة من المـــاء على شريحة زجاجية وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ الهيفات المدادة stolons التى تنمو أفقيا والهيفات الجذرية rhizoids التى تنمو الى أسفل والحـــوامل الاســـبورانجية sporangiophores التى تنمو الى أعلى مقـــابل الهيفات الجـــذرية والتى تحمـــل الاكيـــاس الاسبورانجية sporangia التى يحتوى كل منها على عـــدد كبير من الجراثيم الاسبورانجية الصـــغيرة الســـوداء sporangiospores لاحظ الانتفاخ بداخل الكيس وهو امتداد للحامل الجرثومى داخل الكيس ويسمى هذا الانتفاخ كوليوميلا columella • عندما تنضج الجـــراثيم يتمزق جدار الكيس وتنتشر الجراثيم تاركة جـــزءا من الجـــدار أســـفل الكوليوميلا يعرف بالياقه collar (شكل ١١) •

افحص التحضير المجهز للجراثيم الجنسية الزيجوية Zygospores والتى نشأت من تقابل عضوين جاميطين متشابهين شكلا وحجما • لاحظ الجدار السميك المحبب الاسود اللون •



شكل (١١) فطر عفن الخبز *Rhizopus stolonifer* .

(أ) التكاثر اللاتزاوجي . (ب -) خطوات التكاثر التزاوجي

١ - ياقـة	٢ - كوليوسيللا .	٣ - كيس جرثومي .
٤ - حامل جرثومي .	٥ - هيفا جارية .	٦ - هيفات جذرية .
٧ - حامل جاميطي .	٨ - جاميطة .	٩ - جرثومة زيجوية .

العـائلة الكونيفورية

Fam Choanephoraccae

تعفن كونيفورا فى القرع

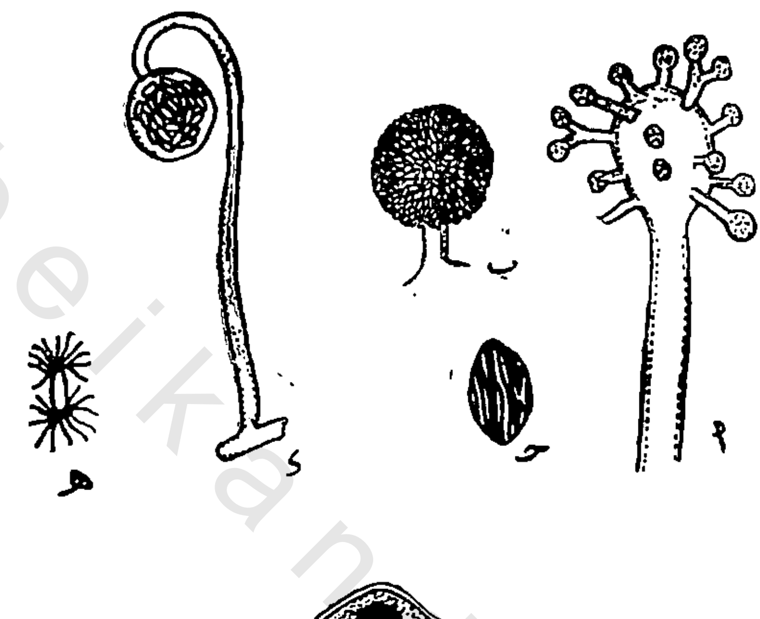
مسبب من *Choanephora cucurbitarum*

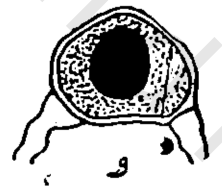
افحص ثمار قرع مصابة بعفن الكونيوفورا • حضر شريحة من الفطر النامى على بيئة آجار البطاطس والدكستروز ولاحظ التركيبات والجراثيم المختلفة من الفطر وهى :

١ ــ الاكياس الاسبورانجية وتحتوى على عــدد كبير من الجراثيم الاسبورانجية والحامل الاسبورانجى منحنى قــرب نهايته الى أســفل ، والجراثيم الاسبورانجية بيضية ذات خصلة من الشعيرات عند كل طرف (شــكل ١٢) •

٢ ــ الجراثيم الكونيدية وتتكون على حوامل كونيدية تنتهى عنــد الطرف بانتفاخ يخرج منه أفرع قصيرة غير متفرعــة عادة ينتهى كل منها بانتفاخ آخر يخرج منه ذنيبات تحمل الجراثيم الكونيدية • الجــرثومة الكونيدية ليمونية الشكل ومخططة تخطيطا طوليا (شكل ١٢) •

٣ ــ الجراثيم الزيجوية : وهى جراثيم جنسية ناتجــة من تزاوج عضوين جاميطين متشابهين شكلا وحجما (شكل ١٢) •





(شكل ١٢) فطر كونوفورا فى القرع

(أ) قمة حامل كونيدى ويظهر الإنتفاخ الأولى والإنتفاخات الثانوية

(ب) جراثيم كونيدية على الإنتفاخ الثانوى . (ح) جرثومة كونيدية.

(د) حامل اسبورانجى وعليه كيس اسبورانجى. (هـ) جرثومة اسبورانجية.

(و) جرثومة زيجوية .

الفصـــل الثـــالث

تحت قسم الفطـريات الاسـكية

Sub. Div. ASCOMYCOTINA

تتميز الفطريات الاسكية بتكوين جراثيم أسكية داخل أكياس أسكية قد تكون عارية أو قد تتجمع داخل ثمار أسكية •

صف الفطريات الاسـكية الاولية

Cl. HEMIASCOMYCETES

تتميز الفطريات الاسكية الاولية بالصفات الآتية :

١ ـ ميسيليوم مقسم بجدر مستعرضة الى خلايا •

٢ ـ لا تكون جراثيما هدبية على الاطلاق •

٣ ـ تكون جراثيما جنسية تعرف بالجراثيم الاسكية Ascospores تتكون داخل أكياس اسكية asci (مفرد ascus) وتكون الاكياس الاسكية عارية •

الرتبـة التفرينية

Or. Taphrinales

تتطفلأفراد هذه الرتبة على النباتات الراقية ويوجد بها عائلة واحدة•

العائلة التفرينية

Fam. Taphrinaceae

تجعـد أوراق الخوخ

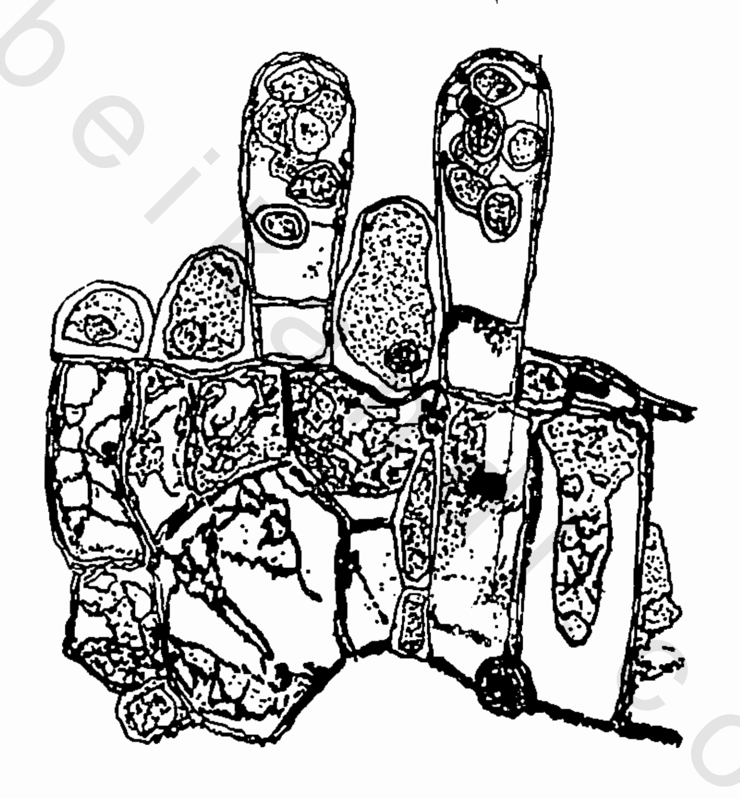
مسبب من *Taphrina deformans*

افحص أوراق نباتات خوخ مصـابة ولاحظ تغلظ وتجعـد الاوراق وتلونها بلون أحمر فى الاصابة الحـديثة وزوال اللون الاحمـر واصفرار الاوراق بعد ذلك فى الاصابة المتقدمة ، يعقب ذلك تكون مسحوق مبيـض على الاوراق نتيجة تمزق طبقة الكيوتيكل •

افحص القطاعات العرضية المجهزة فى الاوراق المصابة ولاحظ :

١ — وجود ميسيليون الفطر المقسم بجدر مستعرضه بين خلايا البشرة والكيوتين •

٢ — وجود الاكياس الاسكية فى صف رأسى بين البشرة وطبقة الكيوتيكل ووجود الجراثيم الاسكية داخل الاكياس (شكل ١٣) •



(شكل ١٣) قطاع عرضى فى ورقة خوخ مصابة بالتجعد . لاحظ الأكياس الأسكية للفطر Taphrina deformans

٣ — زيادة حجم عدد الخلايا hyperplasia وحجم الخلايا hypertrophy فى أنسجة المناطق المصابة من الورقة وهذا هو السبب فى تجعدها •

الفطـريات الاسـكية الحقيقية

تتميز الفطريات الاسكية الحقيقية بالصفات الآتية :

١ — ميسيليوم مقسم بجدر مستعرضة الى خلايا •

٢ — لا تكون جراثيما هدبية على الاطـلاق ، ولا تكون جـراثيما سبورانجية داخل أكياس سبورانجية ولكن تتم عملية التكاثر الـلاجنسى بتكوين جراثيم كونيدية conidia بحالة مفردة أو فى شكل سلسلة ، وتحمل الجرثومة أو الجراثيم الكونيدية على حامل كونيدى conidiophore تنشأ الحوامل الكونيدية على الميسيليوم أو داخل تركيبات ذات أشـكال مختلفـة •

٣ — تكون جراثيما جنسية تعرف بالجراثيم الاسكية تتكون داخـل أكياس اسكية • تتجمع الاكياس الاسكية معا وتحاط من الخارج بغـلاف من هيفات الفطر لتكون أجساما ثمرية تعرف بالثمار الاسكية ascocarps وتختلف الثمار الاسكية فى أشكالها فقد تكون كروية مقفلة أو دورقيـة أو طبقيـة •

صف الفطريات الاسـكية المقفلة

Cl. PLECTOMYCETES

تمتاز أفراد هذا الصف بتكوين أكياس أسكية داخل ثمار أسكية كروية مقفلة تعرف باسم cleistothecia.

رتبة ايريسيفات

Or. Erysiphales

تمتاز أفراد هذه الرتبة بتكوينها لميسيليوم سـطحى على الاجـزاء الخضرية من العوائل • تتكون الاكياس الاسكية للفطر داخل ثمار كروية مقفلة ، وتكون الاكياس — فى حالة وجود أكثر من كيس — موازية لبعضها داخل الثمرة الاسكية •

العائلة الايريسيفية

Fam. Erysiphaceae

تسبب فطريات هذه العائلة مرض البياض الدقيقى لكثير من العوائل. جميع أفراد هذه العائلة فطريات اجبارية التطفل ، ينمو معظمها على بشرة عوائلها وترسل الى طبقة البشرة ممصات للحصول على الغذاء ما عدا جنس واحد *Leveillula* الذى ينمو داخليا فى الفترة الاولى من حياته ثم يظهر على البشرة . يتم التكاثر اللا جنسى بتكوين حامل كونيدى قصير يحمل كونيديا على هيئة سلسلة . ويعرف هذا الطور باسم *Oidium sp.* ، أو بتكوين حامل كونيدى طويل ومقسم يحمل على قمته كونيدة مفردة ويعرف هذا الطور باسم *Oidiopsis sp.* كما فى جنس *Leveillula* أيضا .

تتميز أجناس هذه العائلة عن بعضها بوجود زوائد مختلفة الاشكال على سطح الثمار الاسكية وباختلاف عدد الاكياس الاسكية داخل تلك الثمار (شكل ١٤) وذلك تبعا للجدول الآتى :

I - يحتوى الجسم الثمرى على كيس اسكى واحد

(أ) زوائد الجسم الثمرى هيفية — *Sphaerotheca*

(ب) زوائد الجسم الثمرى متفرعة ثنائيا — *Podosphaera*

II - يحتوى الجسم الثمرى على أكياس اسكية عديدة

(أ) زوائد الجسم الثمرى هيفية .

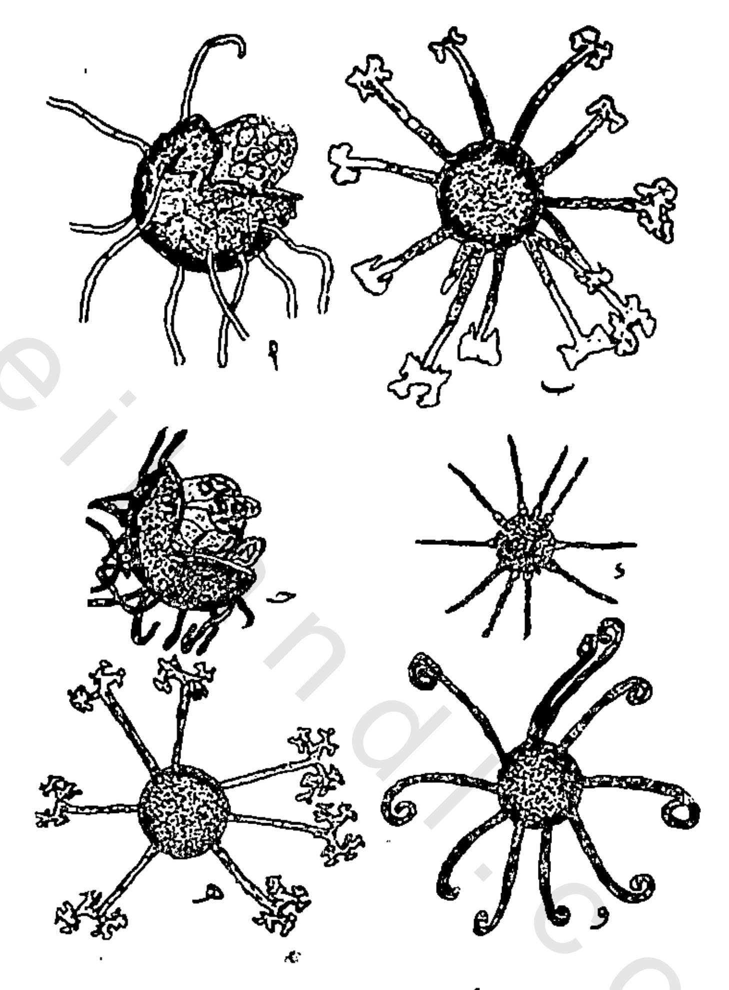
١ — ينمو الفطر سطحيا طول فترة حياته — *Erysiphe*

٢ — ينمو الفطر داخليا فى الفترة الاولى من حياته — *Leveillula*

(ب) زوائد الجسم الثمرة ذات قاعدة منتفخة — *Phyllactinia*

(ج) زوائد الجسم الثمرى متفرعة ثنائيا — *Microsphaera*

(د) زوائد الجسم الثمرى ذات نهايات ملتفة — *Uncinula*



(شكل ١٤) الثمار الأسكية للعائلة الإريسيفية

أ- Sphaerotheca sp. لاحظ أن الثمرة تحتوى على كيس اسكى واحد والزوائد هيفية. ب- Podosphaera sp. ذات زوائد ثنائية التفرع.

جـ- Erysiphe sp. الثمرة تحتوى على عدة أكياس أسكية، الزوائد هيفية.

د- Phyllactinia sp. الزوائد ذات قواعد بصلية الشكل.

هـ- Microsphaera sp. الزوائد ثنائية التفرع.

و- Uncinula sp. الزوائد ذات أطراف ملتفة.

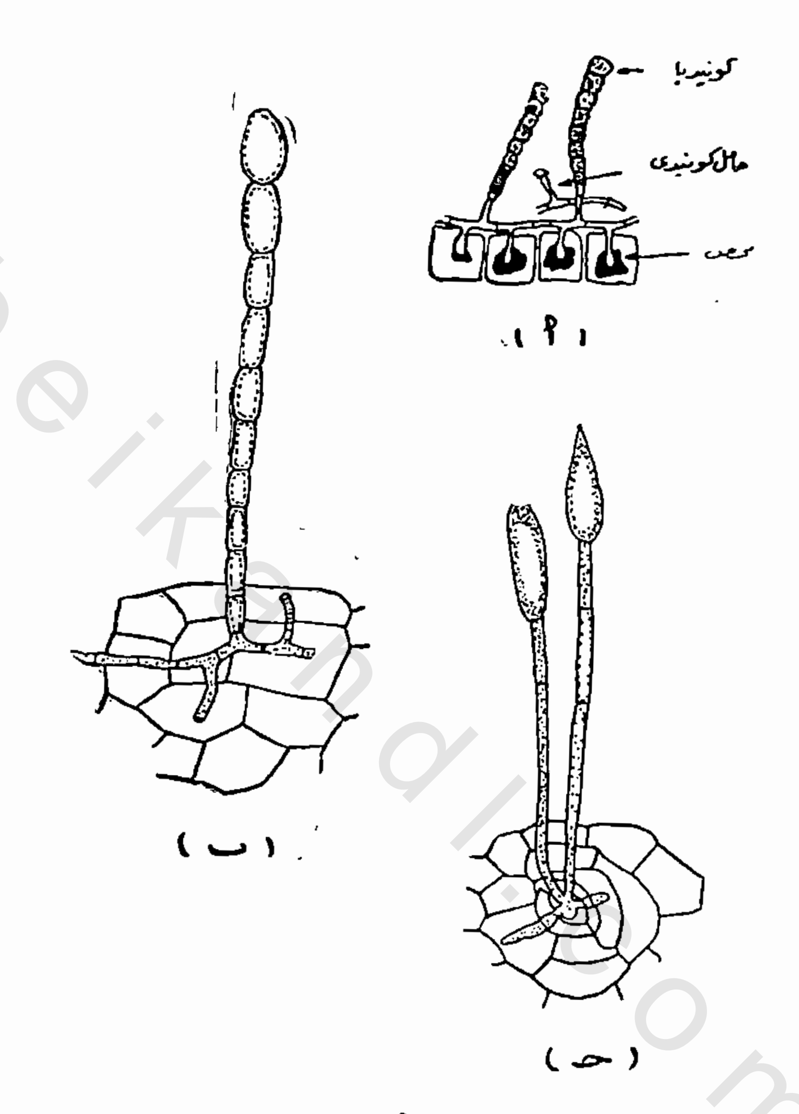
البيـــاض الدقيقى فى الورد

مسبب من *Sphaerotheca pannosa var. rosae*

وهو من أكثر أمراض الورد انتشارا فى مصر ، ويصيب الاوراق والافرع الغضـــة والبراعم الزهرية وأعناقها • افحص الاوراق المصـــابة ولاحظ المظهر الدقيقى • على أى من سطحى الورقة يوجد هـــذا البياض ؟ هل على السطحين معا أو يقتصر ظهوره على ســـطح دون الاخـــر ؟ وأى السطحين أكثر اصابة العلوى أو السفلى ؟ لاحظ اختلاف مساحة البقع فقد تكون صغيرة وقد تشغل معظم سطح الورقة وقد تعم السطح كله • لاحظ أنه فى الاوراق ذات الاصابة المتقدمة تشوه نموها والتواء حوافها وميـــل لونها للاحمرار • افحص أيضا البراعم الزهرية المصابة ولاحـــظ النمـــو الابيض المنتشر على التخت والسبلات وعدم تفتح البراعم الزهرية وجفاف البتلات • افحص تأثير المرض على نمو الافـــرع الغضـــة التى تصـــبح مشوهة وقصيرة •

حضر كشطا من النمو الفطرى واصبغه بلاكتوفينول أزرق وحمله فى جلسرين وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ الميسيليوم المقسم بجدر مستعرضة والممتد على سطح البشرة والذى ينمو منه حوامل كونيدية قصيرة تحـــمل جراثيما كونيدية برميلية الشكل فى سلاسل بسيطة غير متفرعة فى تعاقب قاعدى أى أن أكبر الجـــراثيم قـــرب الطرف وأصـــغرها قرب القاعـــدة (شكل ١٥ أ) •

افحص التحضير الميكروسكوبى المجهز للثمار الاسكية لهذا الفطر — حيث لم يشاهد تكاثره الجنسى بمصر — من حيث الشكل واللون ووجود الزوائد وشكلها ولاحظ فى الثمار الاسكية المزقة وجود كيس اسكى واحد بيضى الشكل أو يميل الى الاستدارة والزوائد بسيطة تشبه الهيفات •



(شكل ١٥) فطر البياض الدقيقى فى الورد Sphaerotheca pannosa ويلاحظ الكونيديا البرميليه الشكل والممصات داخل طبقة البشرة (أ) . فطر البياض الدقيقى فى القرع Erysiphe cichoracearum ويلاحظ الكونيديا البيضية الشكل والميسليوم سطحى على طبقة البشرة (ب) . فطر البياض الدقيقى فى الخرشوف Oidiopsis taurica ويلاحظ خروج الحامل الكونيدى من ثغر ويحمل كونيدة مفردة (حـ)

البياض الدقيــقى فى القــرعيات

مسبب من *Erysiphe Cichoracearum*

يصيب النباتات القرعية كالقرع والخيار والقثاء والشمام ولكنه أكثر انتشارا على القرع ، ويصيب الاوراق وأعناقها والسوق الحديثة •

افحص أعراض المرض على أوراق قرع مصــابة بالبياض الدقيقى ولاحظ البقع السطحية البيضاء التى تظهر على هيئة مســحوق ناعم من الدقيق على كلا السطحين • لاحظ اختلاف مساحة البقــع تبعا لاختلاف شــدة الاصــابة •

افحص أوراقا مصابة فى درجات متفاوتة من الشدة ولاحــظ أنه فى الحالات المتقدمة تصفر الانسجة وتتحول الورقة الى اللون البنى وتجف •

حضر كشطا من النمو الفطرى واصبغه وحمله فى جلسرين وافحصه ميكروسكوبيا وقارن شكل الكونيديا بمثيلتها فى البياض الدقيقى فى الورد• لاحظ أيضا التعاقب القاعدى فى تكوين الكونيديا ، ويعــرف هــذا الطور اللاجنسى باسم *Oidium sp.* (شكل ١٥ ب) •

افحص التحضير الميكروسكوبى المجهز للثمار الاسكية لهــذا الفطر — حيث لم يشاهد تكاثره الجنسى بمصر — ولاحظ الشكل الكروى للثمرة الاسكية وعدد الاكياس (٥—١٠) وعــدد الجراثيم الاسكية فى الكيس ، والزوائد البسيطة التى تشبه الهيفات •

البياض الدقيقى فى الخرشــوف

مسبب من *Leveillula taurica*

(طوره اللاجنسى *Oidiopsis taurica*)

يصيب الخرشوف وعوائل أخرى مثل الفلفل والباذنجــان والطماطم والبطاطس والبصل والفتيل وغيرها •

افحص أعراض المـرض على أوراق خرشـوف مصـابة بالبياض الدقيقى • على أى سطح تتكون ؟ لاحظ تكون بقع بيضـاء على السـطح السفلى فقط يقابلها على السطح العـلوى مناطق باهتة ، وفى الحـالات المتقدمة تصفر الاوراق وتجف •

أكشط قليلا من النمو الفطرى الدقيقى الابيض واصـبغه وحمـله ميكروسكوبيا • هل يتكون هـذا النمو الفطـرى من ميسيليوم سـطحى وحوامل كونيدية أو من حوامل كونيدية فقـط ؟ صف شـكل الحـوامل الكونيدية • هل يحمل الحامل الكونيدى سلسلة من الجراثيم الكونيدية كما فى أمراض البياض الدقيقى السابقة ؟

حضر سلخا فى بشرة مصابة واصبغه وحمله وافحصه ميكروسكوبيا• لاحظ عدم وجود ميسيليوم خارجى على سطح البشرة حيث أن الميسيليوم فى هذا الجنس داخلى ويختلف عن فطريات البياض الدقيقى الاخـرى • افحص مكان خروج الحوامل الكونيدية • تجد أنها تخرج من الثغور وأن الحامل الكونيدى طويل ومقسم الى عدة خلايا ويحمل فى نهايته الطـرفية كونيدة مفردة كبيرة الحجم نسبيا (شكل ١٥ ج) •

وهل يستمر التطفل داخليا طول حياة هـذا الفطر ؟ يكون التطفـل داخلى فى الفترة الاولى من حياة الفطر والتى يحدث فيها التكاثر اللاجنسى ولكن فى نهاية هذا الطور يبرز الميسيليوم من الثغور وينتشر على سـطح البشرة مثل فطريات البياض الدقيقى الاخرى ويحـدث التـكاثر الجنسى وتتكون الثمار الاسكية وهى تشـبه مثيلاتها فى جنس *Erysiphe* والتى سبق وصفها ، ولكن لم يشاهد الطور الجنسى فى مصر •

الفصـــل الرابـــع

تحت اسم الفطــريات البازيدية

Sub. Div. PASIDIOMYCOTINA

تتميز الفطريات البازيدية بميسيليوم مقسم بجدر مستعرضـــة ــ تتكون الجــراثيم البازيدية basidiospores or sporidia (جــراثيم جنسية) خارجيا على حــوامل تعــرف بالحــوامل البازيدية basidia (مفرد basidium) • قد يكون الحامل البازيدى مقسم أو غير مقسم•

١ ــ صــف فطريات تيلية

Cl. TELIOMYCETES

تتميز هذه الفطريات بتكوينها لجراثيم تيليتية ينتج عن انباتها تكوين حوامل وجراثيم بازيدية قد تعطى مباشرة ميسيليوم • يشمل هذا الصف رتبة يوستيلاجينات Ustilaginales التى تتبعها التفحمات ، ورتبة يوريدينات Uredinales التى تتبعها الاصداء •

رتبة يدستيلاجينات Or. Ustilaginales

تشمل هذه الرتبة ثلاث عائلات :

١ ــ يكون جسم ثمرى بازيدى basidiocarp فنجــانى يتطفل على النخيل Family Graphiolaceae

٢ ــ لا يكون جسم ثمرى :

(أ) الحامل البازيدى مقسم بحواجز عرضية ، ويكون جانبيا جراثيما بازيدية فى تتابع Family Ustilaginaceae

(ب) الحامل البازيدى غير مقسم بجدر عرضــية ، ويحمــل جراثيما بازيدية فى قمته Family Tilletiaceae

عائلة جرافيولاية Fam. Graphiolaceae

توجد الجراثيم التيليتية فى صفوف رأسية داخل الجسم الثمرى • الجسم الثمرى فنجانى الشكل سميك الجدار ، أسود اللون • تتبرعم الجرثومة التيليتية لتعطى أربعة جراثيم بازيدية •

تفحم أوراق النخيل

ويسببه *Graphiola phoenicis*

افحص وريقات نخيل مصابة بالتفحم ولاحظ شكل ولون وتركيب الاجسام الثمرية البارزة فوق سطح الوريقة •

اعمل قطاعا عرضيا فى جسم ثمرى وحمله فى نقطة من اللاكتوفينول الابيض ولاحظ الغلاف السميك peridium حول البثرة والهيفات الخصبة تحمل فى أطرافها الجراثيم التيليتية ، وهى صفراء اللون كروية الشكل على هيئة سلسلة • لاحظ الخيوط الهيفية العقيمة الطويلة التى تبرز من فتحة البثرة •

٢ — عائلة يوستيلاجينية Fam. Ustilaginaceae

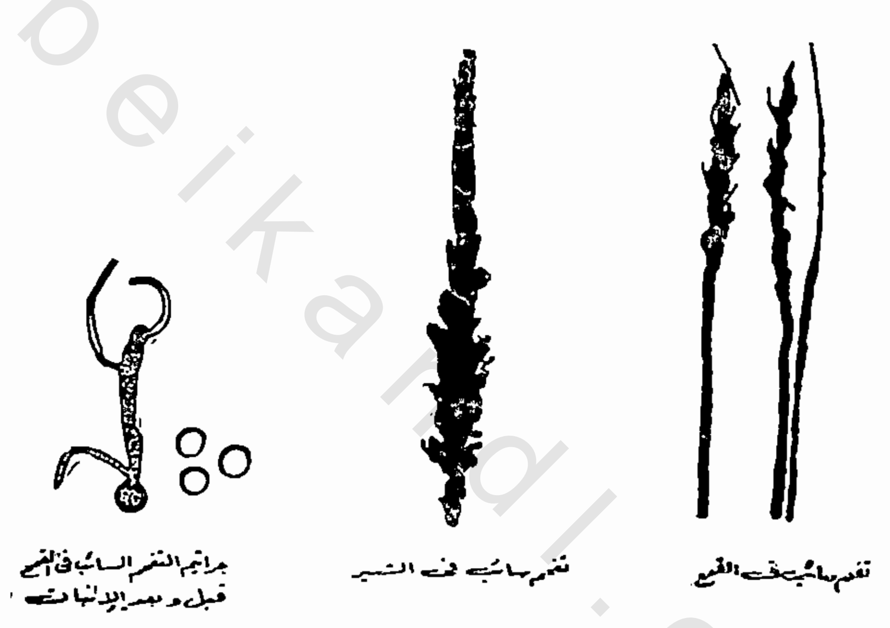
تتميز بأن الحامل البازيدى مقسم بجدر عرضية الى أربعة خلايا تنمو منها جانبيا الجراثيم البازيدية أو تخرج منها هيفات تقوم بعمل الجراثيم البازيدية •

التفحم السائب فى القمح والشعير

يسببه الفطر *Ustilago nuda*

تظهر أعراض المرض عند تكوين السنابل وطردها من الاغماد • افحص سنابل القمح والشعير المصابة بهذا المرض ولاحظ أن المرض أتلف جميع الاجزاء الزهرية وتحولت كل السنبلة الى كتلة من مسحوق أسود عبارة عن الجراثيم التيليتية للفطر المسبب • جهز تحضيرا من المسحوق

الاسود وذلك بلمس المسحوق بطرف ابرة معقمة وغمرها فى نقطة من اللاكتوفينول على شريحة زجاجية وتغطية المسحوق بغطاء شريحة • افحص شكل الجراثيم ميكروسكوبيا ولاحظ أن الجراثيم كروية ذات شعيرات دقيقة على جانب رقيق من الجرثومة بينما باقى الجدار أكثر سمكا (شكل ١٦) •



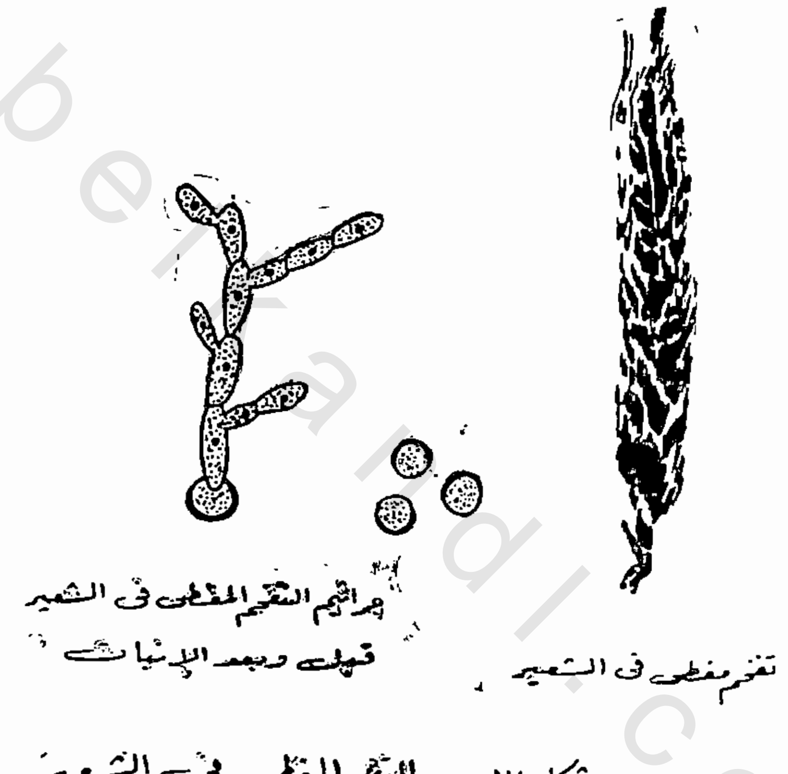
(شكل ١٦) تفحم سائب فى القمح والشعير

التفخم المغطى فى الشعير

يسببه الفطر *Ustilago hordei*

تظهر أعراض المرض عند تكوين السنابل وطردها من الاغماد •
افحص سنابل الشعير المصابة بهذا المرض ولاحظ أن السنبلة أصبح لونها رمادى ولكن لم تتأثر العصيفات (الاغلفة) المغلفة للحبوب حيث ظلت سليمة لتحمى مسحوق الجراثيم من الانتشار أثناء طرد السنابل من الاغماد•

مزق حبة متفحمة بابرة معقمة أو اسحقها بين الاصابع ولاحظ سهولة تمزق الغلاف وخروج المسحوق الذى يكون على هيئة كتلة متماسكة أى أن المرض أتلف جميع أجزاء الحبة الا العصيفات (شكل ١٧) ٠



شكل ١٧ ٠ التفحم المغطى فى الشعير

جهز تحضيرا ميكروسكوبيا من المسحوق الاسود وافحص شكل الجراثيم ولاحظ أن الجراثيم كروية ملساء وجزءا من الجدار أكثر سمكا من باقى الجدار (شكل ١٧)٠

التفحم العادى فى الذرة الشامية

يسببه الفطر *Ustilago maydis*

افحص نباتات الذرة الشامية المصابة بهذا المرض ولاحظ وجود

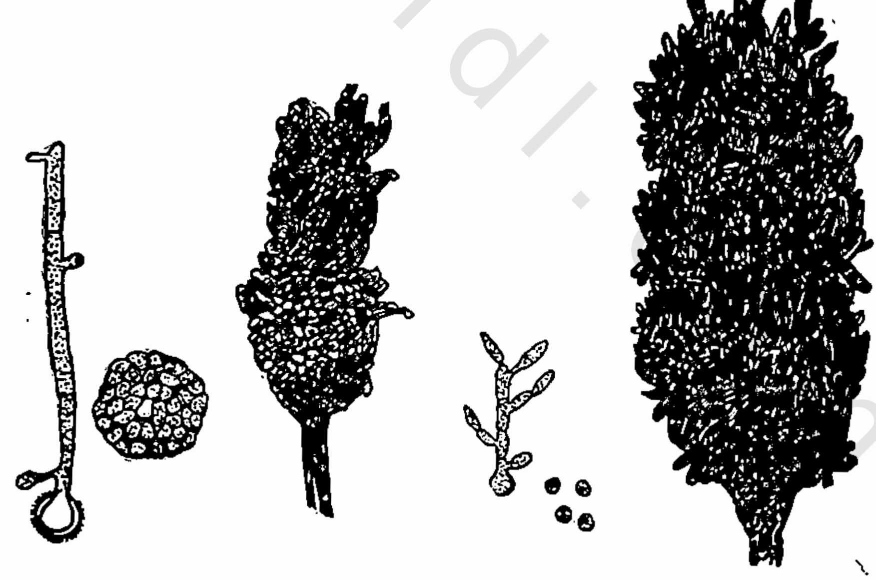
أورام غير منتظمة ومختلفة الاشكال والاحجام على الاجزاء المختلفة من النبات المصاب • لاحظ الاصابة على الكيزان • تغطى الاورام فى المبدأ بغشاء جلدى أبيض من أنسجة النبات ، ثم يتمزق الغشاء بتضخم الاورام وتتعرض جراثيم الفطر التيليتية وتكون على هيئة كتل مسحوقية بنية أو سوداء اللون •

تفحم الحبوب فى الذرة الرفيعة

يسببه الفطر *Sphacelotheca sorghi*

افحص نورة ذرة رفيعة مصابة بالتفحم الحبى ولاحظ أن حبوب النورة ليست جميعها مصابة فبعضها يظل سليما • افحص شكل ولون الحبة المتفحمة ولاحظ تضخم الحبة المصابة وتحولها الى كيس مستطيل مخروطى الشكل مغلف بغلاف رمادى فاتح من ميسيليوم الفطر •

اسحق حبة مصابة وجهز تحضيرا من الجراثيم التيليتية ولاحظ شكلها الكروى ولونها البنى الفاتح وجدارها الاملس (شكل ١٨) •



تفحم الحبوب فى الذرة الرفيعة — جراثيم تفحم الحبوب قبل وبعد الإنبات — التفحم الطويل فى الذرة الرفيعة — كرة جرثومية لفطر التفحم الطويل — إنبات جرثومة ... محدودة

(شكل ١٨) تفحم الحبوب والتفحم الطويل فى الذرة الرفيعة

التفحم الطويل فى الذرة الرفيعة

يسببه الفطر *Tolyposporium ehrenbergii*

افحص نورة ذرة رفيعة مصابة بالتفحم الطويل ولاحظ أن عددا قليلا من حبوب النورة تحول الى أكياس طويلة متفحمة كل منها مغلف بغلاف رمادى اللون • لاحظ تمزق بعض الاكياس وأن التمزق بدأ من القمة وظهرت خيوط سوداء داخلية — عبارة عن الحزم الوعائية للمبيض المتفحم المشوه — يحيط بها مسحوق الجراثيم السوداء •

جهز تحضيرا ميكروسكوبيا من المسحوق الفحمى ولاحظ أن الجراثيم متجمعة فى كرات جرثومية مستديمة مما يميز هذا الفطر عن فطريات التفحم الاخرى (شكل ١٨) •

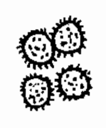
التفحم الرأسى فى الذرة الرفيعة

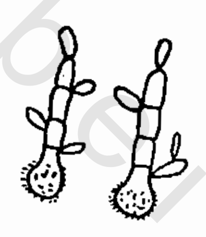
مسبب من *Sphathelotheca reliana*

افحص نورة ذرة رفيعة مصابة بالتفحم الرأسى ولاحظ أن الاصابة تعم النورة وتصبح كيس متفحم يغلف بغلاف بنى يتمزق عند خروج النورة من الغمد وترى الجراثيم التيليتية السوداء منتشرة على الخيوط الليفية السوداء المتشابكة وهى بقايا الانسجة الوعائية للنورة • تسبب الاصابة ضمور النورة ويصبح حجمها حوالى النصف •

جهز تحضيرا للجراثيم التيليتية وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ أن الجراثيم كروية بنية اللون عليها أشواك دقيقة (شكل ١٩) •







نورة مصابة بالتفحم الرأسى — جراثيم التفحم الرأسى — جراثيم منبتة

« شكل ١٩ » التفحم الرأسى فى الذرة الرفيعة

٣ ـ عائلة تيليتية Fam. Tilletiaceae

تتميز أفراد هذه العائلة بأن الحامل البازيدى غير مقسم ويحمل الجراثيم البازيدية طرفيا •

التفحم المغطى فى القمح

مسبب من *Tilletia foetida & T. caries*

افحص سنابل القمح المصابة بالتفحم المغطى وقارن بينها وبين السنبلة السليمة • لاحظ أن قنابع السنبلة المصابة تكون منفرجة قليلا •

افحص الحبوب المتفحمة ولاحظ أنها أدكن لونا وضامرة نحيلة مستدقة الطرفين وأحيانا تميل الى الاستدارة •

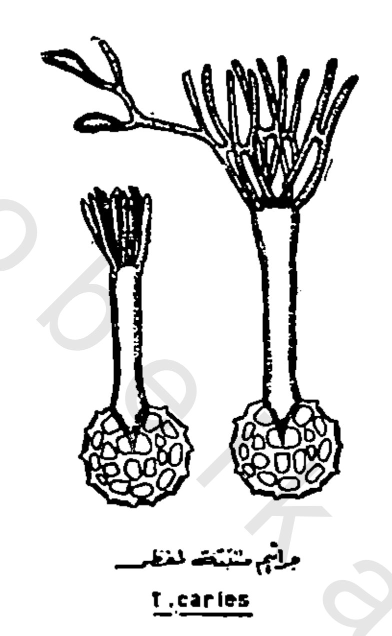
افحص حبة متفحمة بين أصابعك • اضغط عليها يخرج مسحوق أسود يتكون من جراثيم الفطر التيليتية ينبعث منها رائحة كريهة تشبه

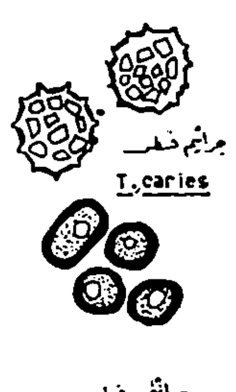
رائحة السمك المتعفن • لاحظ أن هذا المسحوق ذو ملمس زيتى • حمل بعضا من الجراثيم التيليتية فى لاكتوفينول وافحصها ميكروسكوبيا ولاحظ أن الجراثيم مستديرة أو بيضية الشكل والقليل منها مضلع الى حد ما ، ذات جدار بنى فاتح أملس فى النوع *T. foetida* وشبكى فى النوع *T. caries* (شكل ٢٠) •

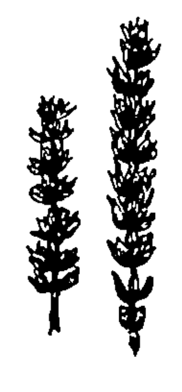
التفحم اللوائى فى القمح

مسبب من *Urocystis tritici*

افحص نبات قمح ناضج مصاب بالتفحم اللوائى • قارن بين أعراض الاصابة فى هذا المرض وأمراض التفحم الاخرى التى تصيب القمح • لاحظ أعراض الاصابة على انصال وأغماد الاوراق التى تصبح ملتوية مجعدة أو ملتفة لولبيا • لاحظ أيضا الخطوط الطويلة الرمادية اللون التى تمتد طوليا بين عروق الاوراق وهى عبارة عن البثرات التفحمية للمرض قبل انفجار البشرة • قد تتكون أيضا بثرات على الساق • لاحظ عدم تكون سنابل على النبات المصاب واذا تكونت سنابل ضامرة لا تحمل حبوبا • جهز تحضيرا ميكروسكوبيا لجراثيم الفطر وذلك بتمرير ابرة تشريح معقمة على الخطوط الطويلة الرمادية لنصل الورقة ثم ضعها فى نقطة من اللاكتوفينول تجد أن الجراثيم تتكون فى كرات جرثومية بنية اللون من ٢—٤ جراثيم مغلفة بغلاف من خلايا عقيمة فاتحة اللون (شكل ٢١) •





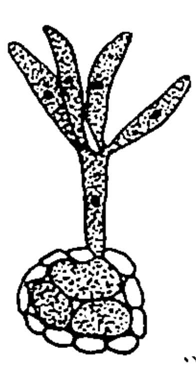


جراثيم منبتة لفطر T. caries

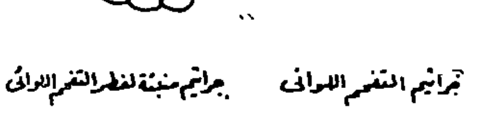
جراثيم فطر T. foetida

سنابل قمح مصابة بالتفحم المغطى

(شكل ٢٠) التفحم المغطى في القمح







جراثيم منبتة لفطر التفحم اللوائى

جراثيم التفحم اللوائى

تفحم لوائى في أوراق القمح

(شكل ٢١) التفحم اللوائى في القمح

رتبـــة يوريدينـات

Or. Uredinales

تسبب فطريات هذه الرتبة أمراض الاصداء ، وهى فطريات اجبارية التطفل.ما عدا القليل جدا منها الذى أمكن تنميته فى مزارع صناعية .

تتميز الاصداء بتكوين خمسة أطوار وهى الطور المشيجى والاسيدى واليوريدى والتيليتى والبازيدى . قد تتكون جميع الطوار على عائل واحد ويسمى الصدأ فى هذه الحالة وحيد العـائل monoecious ، أو تتكون الاطوار على عائلين متبادلين ويسمى الصدأ ثنائى العائل dioecious

ومن الظواهر الواضحة للاصداء ظاهرة التخصص الفسيولوجى أى وجود عدد من السلالات الفسيولوجية يختص كل منها باصـابة أصناف معينة دون الاخرى من النبات الواحد .

الحامل البازيدى مقسم بجدر مستعرضة الى أربع خلايا ينتـج كل منها جرثومة بازيدية واحدة . تحتوى هذه الرتبة على عائلتين : العائـلة البكسينية والعائلة الميلامبسورية .

عائـلة بكسينية

Fam.. : Pucciniaceae

تتميز بتكوين جراثيم تيليتية كل منها ذات حامل ومنفصلة عن بعضها.

صـــدأ الفـــول

مسبب من *Uromyces fabae*

افحص نبات فول مصاب بالصدأ . لاحظ مدى انتشار البثرات على كل من السطحين العلوى والسفلى للاوراق . يتفاوت مدى انتشار البثرات من عدد قليل الى عدد كبير يكاد يغطى سطحى الورقة . ميز بين البثرات

اليوريدية ذات اللون البنى الفاتح والثبرات التيليتية الكبيرة الحجم ذات اللون البنى الداكن •

حضر قطاعا عرضيا فى نصل ورقة يمر ببثرة يوريدية (مستعينا بجذر جزر بعد شقه طوليا ووضع جزء من الورقة داخل الشق) وافحص التحضير ميكروسكوبيا بعد تحميله فى لاكتوفينول على شريحة زجاجية ولاحظ أن الجرثومة اليوريدية بيضية الشكل وحيدة الخلية ذات حامل وجدارها بنى رقيق ذو أشواك دقيقة •

حضر قطاعا عرضيا آخر فى نصل ورقة يمر ببثرة تيليتية وافحص التحضير ميكروسكوبيا ولاحظ أن الجرثومة التيليتية أيضا بيضية الشكل وحيدة الخلية ذات حامل طويل وجدارها بنى داكن سميك يوجد به ثقب انبات عند القمة (شكل ٢٢) •

صدأ الساق الاسود فى القمح

مسبب من *Puccinia graminis tritici*

افحص نباتات قمح مصابة بصدأ الساق الاسود ولاحظ ما يأتى :

١ — اصابة السيقان وأغماد وأنصال الاوراق والسنابل •

٢ — البثرات اليوريدية مستطيلة تتفاوت فى الطول وقد تبلغ بضعة ملليمترات وأحيانا تتصل معا وتكون سطورا تمتد على السطح المصاب • لاحظ البشرة الممزقة حول حافة البثرة التى أصبح مظهرها مسحوقيا وذات لون برتقالى •

٣ — البثرات التيليتية مستطيلة أيضا وقد تتحد معا وتكون سطورا سوداء اللون • تتمزق البشرة حول حافة البثرة التى يكون مظهرها مسحوقيا •

اعمل قطاعا عرضيا فى ساق مصابة يمر ببثرة يوريدية وآخر يمر ببثرة تيليتية ولاحظ :

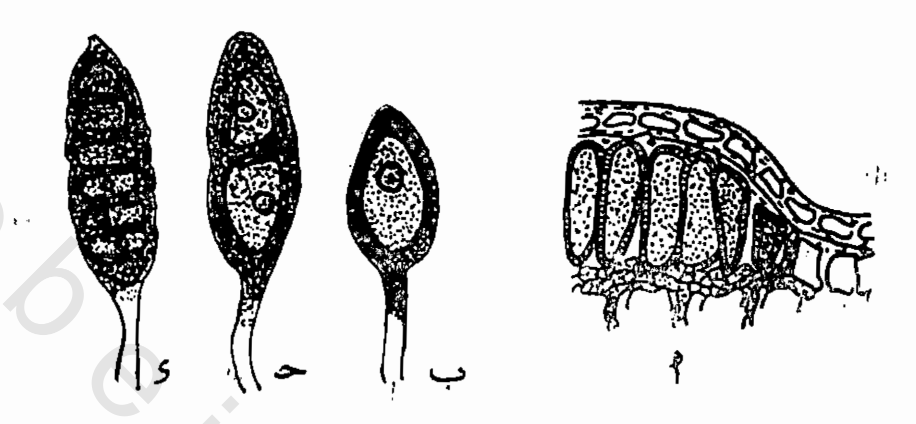
١ — الجرثومة اليوريدية وحيدة الخاية ، بيضية أو مستطيلة الشكل، جدارها شوكى ولونها برتقالى ، وذات حامل قصير •

٢ — الجرثومة التيليتية تتكون من خليتين ، مستدقة الطرف ، جدارها سميك وخاصة عند القمة ، لونها بنى داكن ، وذات حامل طويل أفتح لونا (شــكل ٢٢) •

فطر صدأ الساق الاسود فى القمح ثنائى العائل ، يتكون الطــوران المشيجى والاسيدى على نبات الباربرى •افحص التحضيرات المجهزه لهذين الطورين ولاحظ الاتى :

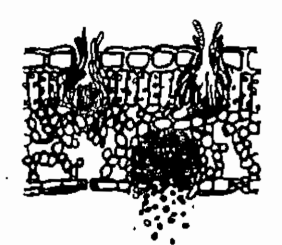
١ — الجراثيم المشيجية spermatia (pycniospores) تتكون داخــــل أوعيـــة مشـيجيــة spermagonia (pycnia) على السـطح العلوى للورقة • الوعاء البكنى دورقى الشكل ذو فوهة طرفية يبرز منها هيفات مستقبلة الى الخارج (شكل ٢٣) •

٢ — الجراثيم الاسيدية aeciospores : تتكون داخــل أوعية أسيدية aecidia على السطح السفلى للورقة مقابل الاوعية المشيجية الوعاء الاسيدى يشبه الفنجان المقلوب تتكون داخله الجراثيم الاسيدية فى سلاسل وهى مكعبة أو مستطيلة الى حد ما (شكل ٢٣) •



(شكل ٢٢) جراثيم تيليتية لأصداء

الكتان (ء) ، الفول (ب) ، القمح (حـ) ، الورد (ى)
ولاحظ أن الجراثيم جالسة فى صدأ الكتان وذات حامل فى جراثيم الأصداء الأخرى
ولاحظ أن الجرثومة وحيدة الخلية (ب) وثنائية الخلايا (حـ) وعديدة الخلايا (ى).



(شكل ٢٣) الطور المشيجى والطور الأسيدى لفطر صدأ الساق الأسود فى القمح على ورقة نبات الباربرى.

الصـــدأ البرتقـــالى فى القمـــح

مسبب من *Puccinia recondita var. tritici*

افحص نباتات قمح مصابة بالصدأ البرتقالى وقارن بينها وبين تلك المصابة بصدأ الساق الاسود ولاحظ :

١ — تقتصر الاصابة بالصدأ البرتقالى على أنصال الاوراق عادة •

٢ — البثرات اليوريدية والتيليتية مستديرة أو بيضية ، غير منتظمة التوزيع ولا تتصل معا • الثبرات اليوريدية برتقاليـــة اللون توجـــد على السطحين وتزداد على السطح العلوى • البثرات التيليتية ذات لون اسود توجد على السطحين وتزداد على السطح السفلى •

٣ — الجراثيم اليوريدية وحيدة الخلية كروية ، برتقالية اللون ، ذات جدار شوكى بنى به ثقوب انبات (٤—٦) واضحة •

٤ — الجراثيم التيليتية ذات خليتين ، مستطيلة أو صولجانية الشكل، منبسطة أو مستديرة القمة ، بنية اللون ، جـــدارها أملس ، ذات حامـــل قصير ملون •

الصـــــدأ الاصـــفر فى القمـــح

مسبب من *Puccinia striiformis*

افحص نباتات القمح المصابة بالصدأ الاصفر ولاحظ :

١ — البثرات اليوريدية صغيرة بيضية ، صفراء اللون مرتبـــة على هيئة سطور طولية متوازية على السطح العلوى لانصال الاوراق والاغماد والقنـــابع •

٢ — الثبرات التيليتية صغيرة بيضية ، سوداء اللون مرتبة على هيئة

سطور طولية متوازية على السطح السفلى للانصـال ، ونادرا ما توجـد على الاغمـاد •

٣ ــ الجراثيم اليوريدية وحيدة الخلية كروية صـفراء ، جـدارها شوكى ، وذات حامل •

٤ ــ الجراثيم التيليتية ذات خليتين ، اسطوانية أو صولجانية ذات قمة مستديرة ، بنية اللون ، جدارها أملس ولها حامل قصير ملون •

صـدأ الورد

مسبب من *Phragmidium mucronatum*

افحص أوراق نبات الورد المصابة بالصدأ ولاحظ :

١ ــ البثرات اليوريدية برتقالية اللون تحيط بها هيفات عقيمة •

٢ ــ البثرات التيليتية داكنة اللون •

تتميز الجراثيم التيليتية فى هذا الجنس عن الجنسين السابقين من الصدأ (*Uromyces* و *Puccinia*) بأن الجرثومة عديدة الخلايا، تتكون من ٣ــ١٠ خلايا مرتبة طوليا ويستدق طرف الخليـة العـلوية الى نتوء طويل ، والجرثومة ذات جدار محبب وحامل طويل منتفخ القاعـدة (شكل ٢٢) • صدأ الورد أحادى العـائل ولكن لم يشاهـد له فى مصر الا الطورين اليوريدى والتيليتى •

عائـلة ميـلامبسورية

Fam. Melampsoraceae

تتميز فطريات هذه العائلة بجراثيم تيليتية جالسة ، متلاصقة جانبيا تحت بشرة العائل مباشرة •

صـــــدأ الكتـــان

مسبب من *Melampsora lini*

حضرقطاعات عرضية فى جزء من نبات كتان مصاب بالصدأ وافحصها ميكروسكوبيا ولاحظ الآتى :

١ ـ توجد فى البثرة اليوريدية هيفات عقيمة منتفخة الاطراف مختلطة بالجراثيم اليوريدية •

٢ ـ تظهر البثرات التيليتية على الاوراق والسوقعلى شكل بقـع لامعة غير منفجرة ذات لون بنى محمـر أو بنى داكن ، وقـد تتلاصـق البقـع معـا •

٣ ـ الجرثومة التيليتية جالسة ليس لها حامـل ، تتكون من خليـة واحدة مستطيلة ، ذات جدار أملس رقيق • الجراثيم التيلينية متلاصـقة طوليا بجوار بعضها تحت بشرة العـائل مباشرة مكونة ما يشـبه النسيج العمادى (شـكل ٢٢) •

ثانيا : صف فطــريات هيمينية

Cl. HYMENOMYCETES

رتبة أفيلوفورات Or. Aphyllophorales

تتميز أفراد هذه الرتبة بوجود جسم ثمرى بازيدى Basidiocarp ذات طبقة خصبة hymenium تختلــف كثيرا فى أشــكالها وتركيبهــا وقوامها ، فقد تكون منبسطة أو ملتفة أو صولجانية أو فنجانية • ينتج من الطبقة الخصبة مباشرة صف من الحوامل البازيدية غير المقسمــة والتى تحمل على أطرافها الجراثيم البازيدية •

عائلة كورتيسية Fam. Corticiaceae

الجسم الثمرى منبسط ، والطبقة ناعمة أو مجعدة ، مفككة وليس لها حافة محددة •

خناق القطن Sore-shin

مسبب من *Thanetephorus cucumeris*

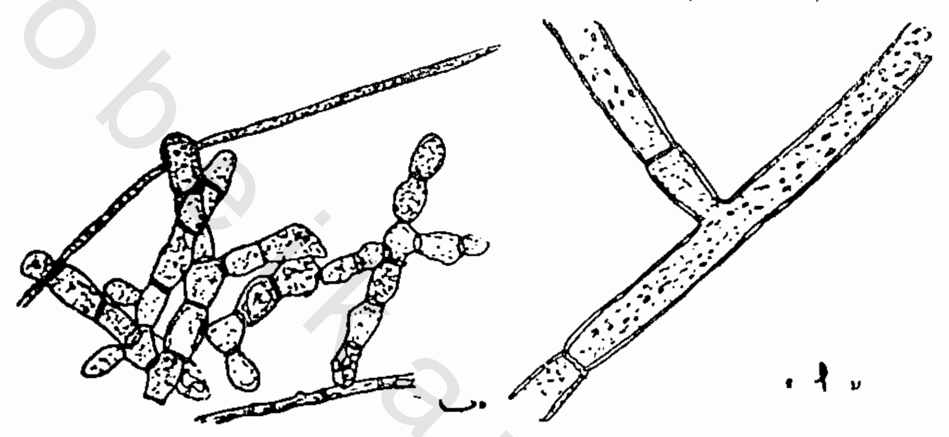
(الطور الناقص *Rhizoctonia solani*)

افحص بادرات قطن مصابة ولاحظ وجود قرحة بنية داكنة غائرة فى منطقة السويقة الجنينية السفلى فى مستوى ســطح التربة • وقــد تشتد الاصابة وتصبح القرحة محيطة بأنسجة السويقة الجنينية السفلى وتتآكل أنسجة القشرة مما يؤدى الى سقوط البادرة •

اعمل قطاعا عرضيا فى المنطقة المصابة لتشاهد تآكل أنســجة القشرة وانتشار هيفات الفطر داخلها •

حضر شريحة من فطر *R. solani* وهو الطور الناقص للفطــر — حيث لم يشاهد الطور الكامل له للآن بمصر — والنامى على بيئــة آجار البطاطس والدكستروز ، وحمله لاكتوفينول أبيض وافحــص الخــواص

المميزة لهيفات الفطر ولاحظ هيفاته البنية السمكية المقسمة بجدر مستعرضة تتفرع على زوايا تكاد تكون قائمة مع الهيفا الاصلية ولاحظ وجود اختناق واضح عند نقط تفرع الهيفات ووجود حاجز عرضى فوق مكان الاختناق مباشرة (شكل ٢٤) •



(شكل ٢٤) فطر **Rhizoctonia solani**

لاحظ التفرع يكاد يكون عمودى (أ) ولاحظ الخلايا البرميلية الشكل التى تكون الكتلة الهيفية أو الجسم الحجرى (ب)

افحص أيضا الكتل الهيفية البنية الداكنة المنتشرة على البيئة المغذية وهى على هيئة صفائح رقيقة تجد أنها مكونة من خلايا برميليـــة الشـــكل متجمعة ومندمجة معا وتعرف الكتل الهيفية باسم Sclerotia (مفرد Sclerotium) (شـــكل ٢٤) •

العائلة البوليبورية Fam. Polyporaceae

الجسم الثمرى فى هذه العائلة منبسط أو منعكس والطبقة الخصـــبة ذات ثقوب •

عفن سيقان أشـجار الكازورينا

مسبب من *Polyporus gilvus*

افحص الجسم الثمرى للفطر *P. gilvus* تجد أنه يتكون من عدة

طبقات خصبة على هيئة رفوف فوق بعضها • توجد الطبقة الخصـــبة على السطح السفلى لكل رف وينتشر بها ثقوب عديدة (شكل ٢٥) •



(شكل ٢٥) الأجسام الثمرية لفطر Polyporus gilvus

نامية على ساق شجرة كازورينا •

افحص القطاع العرضى المجهز فى الطبقة الخصبة ولاحظ الحوامل البازيدية غير المقسمة التى تبطن الثقوب والتى تحمل على قمة كل منها أربعة جراثيم بازيدية عديمة اللون •

العائلة الجانودرماتية Fam. *GANODERMATACEAE*

الجسم الثمرى جالس أو معنق ، والطبقة الخصـــبة مثقبـــة وتبطن الثقوب حوامل بازيدية غير مقسمة وتحمل على قمة كل منها أربعة جراثيم ملونة ذات جدار داخلى بنى عليه أشواك •

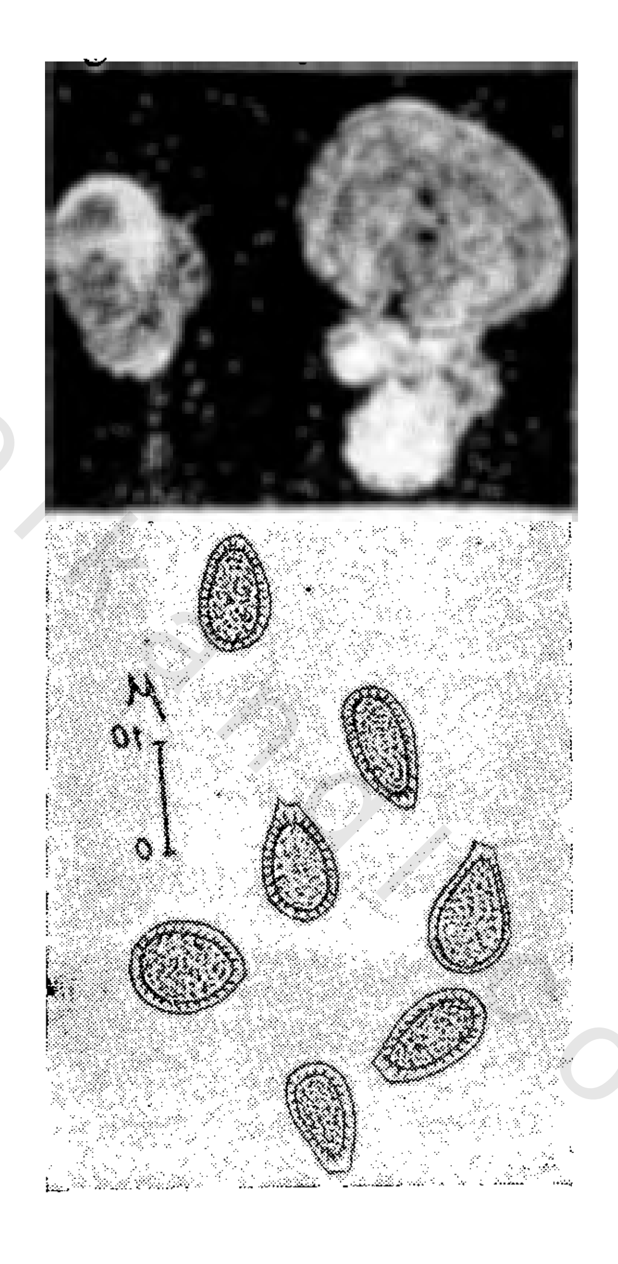
عفن قـــــواعد الاشجـــار

ويسببه *Ganoderma sp.*

افحص الجسم الثمرى للفطر *Ganoderma sp.* ولاحـــظ أنه يتكون

من عنق وقلنسوة ذات سطح أملس لامع يميل الى البنى المحمر • توجـــد الطبقة الخصبة على السطح السفلى للقلنسوة وهى ذات ثقوب •

افحص القطاع العرضى المجهز فى الطبقة الخصبة ولاحظ الحوامل البازيدية غير المقسمة التى تبطن الثقوب والتى تحمل على قمـــة كل منها أربع جراثيم بازيدية ملونة ، والجـــدار الداخلى للجــرثومة بنى عليـــه أشواك قصيرة (شكل ٢٦) •



(شكل ٢٦) أجسام ثمرية لفطر <u>Ganoderma</u> sp. (علوى)
وجراثيم الفطر (أسفل) ولاحظ أن الجدار الداخلى
ذات أشواك قصيرة

الفصـل الخـــامس

الفطــريات الناقصـــة

Su. Div. DEUTEROMYCOTINA

Fungi Imperfecti

تضم الفطريات الناقصة تلك الفطريات التى ليس لها طور جنسى أو أن الطور الجنسى لم يكتشف بعد • فى بعض الحالات التى يندر فيها تكوين الطور الجنسى يعرف للفطر اسمان أحدهما ينتمى للفطريات الناقصـــة • بعض الفطريات الناقصة لا تكون أيضا جراثيما لا جنسية ولذلك تعــرف بالفطريات العقيمة *Mycelia sterilia*

أولا : صـــف فطــريات هيفيـــة

Cl. HYPHOMYCETES

رتبـــــة مــونيليـــات

Form. Or. Moniliales

تمتاز فطريات هذه الرتبة بحوامل كونيدية مفردة أو فى مجاميع •

العـــائلة المــونيليـــة

Form. Fam . Moniliaceac

تمتاز فطريات هذه العائلة بحوامل كونيدية منفردة وأن الميسيليوم والحوامل الكونيدية والجراثيم عديمة اللون أو ذات لون فاتح •

العفن الاخضر والعفن الازرق فى ثمـــار البرتقـــال

عفن أزرق مسبب من *Penicillium digitatum*

عفن أخضر مسبب من *Penicillium italicum*

يسبب النوعين من الميسيليوم عفنا لينا فى ثمار البرتقال • قارن بين أعراض المرضين من حيث المظهر الخارجى للاصـــابة • لاحـــظ أن العفن الاخضر على شكل نطاق عريض أبيض غير منتظم الحافة يحيط بنمو أخضر زيتونى ويكون النطاق الميسيليومى الابيض فى حالة العفن الازرق ضـــيقا غير منتظم الحافة يحيط بنمو أزرق رمادى •

حضر كشطا عند حافة اللون الاخضر أو اللون الازرق وحملهما وافحصهما ميكروسكوبيا ولاحظ :

١ — الميسيليوم مقسم عرضيا •

٢ — الحوامل الكونيدية مقسمة وتتفرع عند قمتها الى فرعين أو أكثر كل منها يعرف باسم متيولا metula (جمع metulae) وتتفرع ثانية الى أفرع قصيرة متجاورة تسمى فياليدات phialides تحمل على قمتها جراثيما كونيدية فى سلاسل ويعطى هذا المظهر شكل المقشة (شكل ٢٧ أ) • لاحظ أن لون العفن يرجع الى لون الجراثيم فى كل حالة •

اقطع الثمرة بحيث يمر القطع فى المنطقة المصابة ولاحظ تحلل الانسجة فى تلك المنطقة وتحول طعمها الى مذاق مر ورائحة غير مقبولة •

افحص الثمار المصابة بعد عدة أيام تجد أن العفن الاخضر أسرع نموا وامتدادا من العفن الازرق وتصبح الثمرة كلها مغطاة بطبقة كثيفة مسحوقية خضراء اللون من جراثيم الفطر ثم تجف الثمرة وتنكمش •

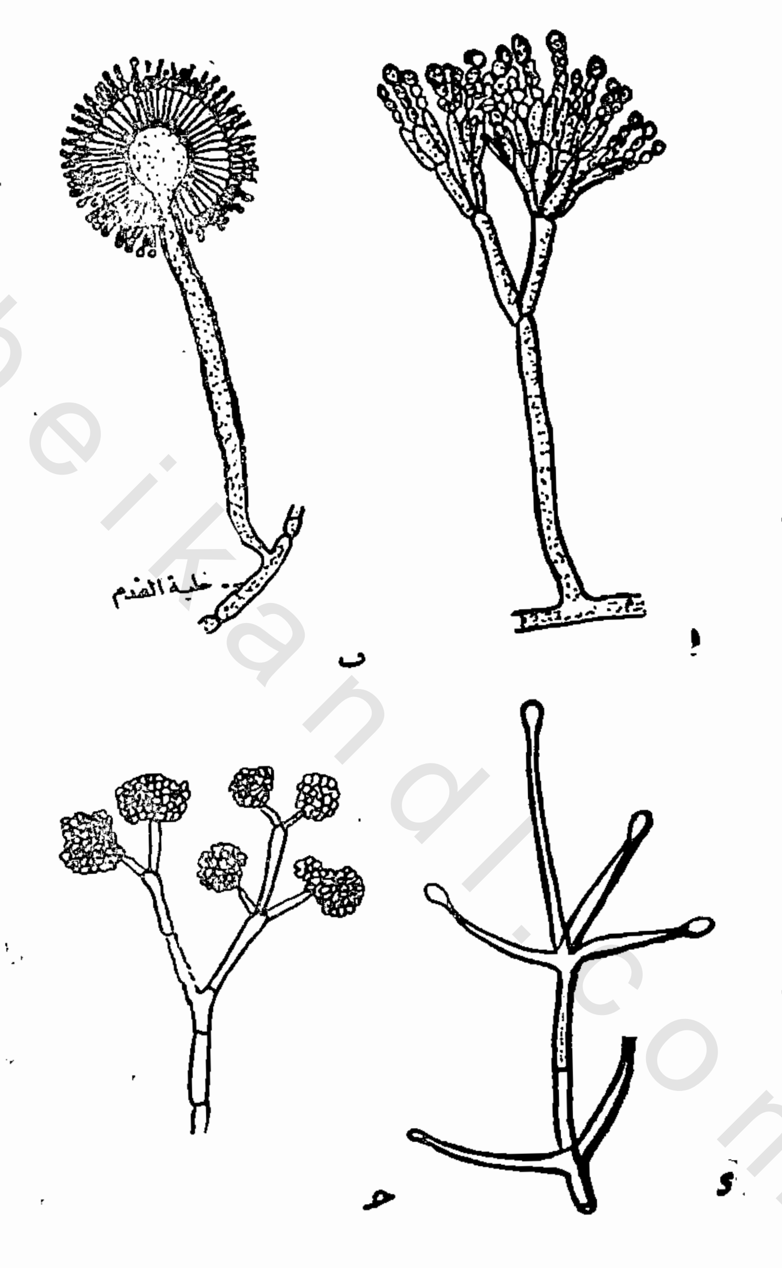
العفن الاسود فى البصل

مسبب من *Aspergillus niger*

افحص بصلة البصل المصابة ولاحظ وجود مسحوق متفحم اسود على السطح الخارجى والداخلى لقواعد الاوراق الخارجية • حضر كشطا من المسحوق الاسود ، حمله وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ :

١ — الميسيليوم مقسم عرضيا •

٢ — الحوامل الكونيدية غير مقسمة وغير متفرعة تنتهى بانتفاخ *vesicle* كروى الشكل وتحمل طبقتين متتاليتين من الذنيبات ، الطبقة الاولى من الذنيبات أطول من الطبقة الثانية ، وتحمل الطبقة الثانية الجراثيم الكونيدية الكروية السوداء فى سلاسل (شكل ٢٧ب) •



شكل ٢٧: (أ) Penicillium sp. (ب) Aspergillus niger
(حـ) Botrytis sp. (ء) Verticillium sp

التبقـع البنى فى الفـول

مسبب من *Botrytis fabae*

افحص نباتات الفول المصابة بالبقع البنى ، ولاحظ شـكل البقـع الحمراء البنية المنتشرة على سطحى الوريقات وأعناق الاوراق والساق ، تجد أن بقع الاوراق تكون صغيرة دائرية أو بيضـاوية بينما تكون بقـع الساق طويلة • قد تصاب القرون وفى هذه الحالة تمتد الاصابة من جدار القرن الى البذور • افحص شكل بقع القرون والبذور •

جهز تحضيرا من مزرعة الفطـر النامى على بيئـة آجار البطاطس والدكستروز وحمله واصبغه ولاحظ أن الحوامل الكونيدية قائمة ومقسمة عرضيا وتتفرع ثنائيات قرب نهايتها ـ تتفلطح النهاية الطـرفية قليـلا وتحمل جراثيما كونيدية على ذنيبات (شكل ٢٧ جـ) • لاحـظ فى أطبـاق مزرعة الفطر انتشار أجسام حجرية سوداء sclerotia عبارة عن كتل هيفية متماسكة لحفظ حيوية الفطر من موسم الى آخر •

عفن طـرف السـيجار فى المـوز

مسبب من *Verticillium theobromae*

افحص ثمار موز مصابة بمرض عفن طرف السيجار ولاحظ أن لون العفن بنى داكن به حلقات دائرية رمادية اللون نتيجة تجرثم الفطر • لاحظ الحد الفاصل بين الانسجة المصابة والانسجة السليمة •

جهز تحضيرا من الفطر واصبغه وحمله وافحصه ميكروسكوبيا ولاحظ الحامل الكونيدى القائم والمقسم بجدر مستعرضة ، وتخرج من الحوامل أفرع قصيرة (فياليدات) ذات وضع سوارى ، يحمل كل فرع جـرثومة مفردة أو مجموعة من الجراثيم فى كتلة هلامية ، والجراثيم عـديمة اللون صغيرة الحجم بيضية الشكل (شكل ٢٧ د) •

لفحـــة الارز

Pyricularia oryzae

افحص نباتات الارز المصابة باللفحة • لاحظ البقـع المنتشرة على الاوراق ذات الشكل المغزلى ، الرمادى اللون فى المنتصف وتحـدها حافة بنية • قد تمتد الاصابة الى أغماد الاوراق والساق والسنابل • افحـص مجور السنبلة المصابة ولاحظ وجود اختناق فى تلك المنطقة مما يجعل الحبوب ضعيفة التكوين وغير ممتلئة ويعرف هذا الطور بخناق الرقبة •

افحص التحضيرات المجهزة من الفطر ولاحظ الحامل الكونيدى القائم وغير المتفرع والذى يحمل فى طرفه الجراثيم الكونيدية المغزلية الشـكل والمقسمة بجدر عرضية الى اثنين أو ثلاث خلايا •

٢ ـ العـائلة الديماتيسة

Form. Fam. Dematiaceae

تمتاز فطريات هذه العائلة بأن حواملها الكونيدية توجد منفردة وأن الميسيليوم والحوامل الكونيدية أو الجراثيم داكنة اللون ، بنية الى سوداء•

التبقـع البنى فى الارز

مسبب من *Drechslera oryzae*

افحص نباتات الارز المصابة بالتبقع البنى ولاحظ البقع الدائرية أو البيضاوية البنية اللون التى تنتشر على الاوراق • قد تلتحم البقع لتشمل مساحة كبيرة من سطح الورقة • قـد تمتد الاصـابة الى أعناق الاوراق والساق والسنابل (شكل ٢٨ أ) •

جهز تحضيرا من الفطر النامى على بيئة آجار البطاطس والدكستروز ولاحظ شكل الحامل الكونيدى البنى الزيتونى وأماكن خروج الجـراثيم الكونيدية منه • الجراثيم الكونيدية ذات لون بنى زيتونى ، منحنية قليلا ومقسمة الى ٦ــ١٤ خلية بحواجز مستعرضة كاذبة •

يسمى الفطر فى طوره الكامل الاسكى *Cochliobolus miyabeanus*

التلطخ الشبكى فى الشعير

مسبب من *Drechslera teres*

إفحص أوراق الشعير المصابة ولاحظ البقع البنية الميتة والنظام الشبكى للعروق الداكنة التى تشاهد عند تعريض الورقة المصابة للضوء •

حضر كشطا من النمو الفطرى على سطح الورقة المصابة — وخاصة التى حفظت فى رطوبة كافية لمدة يوم أو يومين — ولاحظ الحوامل الكونيدية القصيرة البنية اللون ، والجراثيم الكونيدية ذات لون بنى زيتونى ، اسطوانية الشكل ، مقسمة الى ٤—٦ خلايا عادة بحواجز مستعرضة كاذبة ووجود انقباضات مقابل الجواجز الكاذبة (شكل ٢٥ب) •

يسمى الفطر فى طوره الكامل الاسكى *Pyrenophora teres*

تخطط الاوراق فى الشعير

مسبب من *Drechslera graminea*

افحص أوراق الشعير المصابة بالتخطط ولاحظ الخطوط الصفراء الممتدة على أنصال وأغماد الاوراق والتى تتحول الى لون بنى ثم تمزق النصل الى أشرطة جافة مغطاة بنمو رمادى من أطوار الفطر — قد تظهر الاصابة أيضا على الحبوب بشكل بقع بنية داكنة اللون •

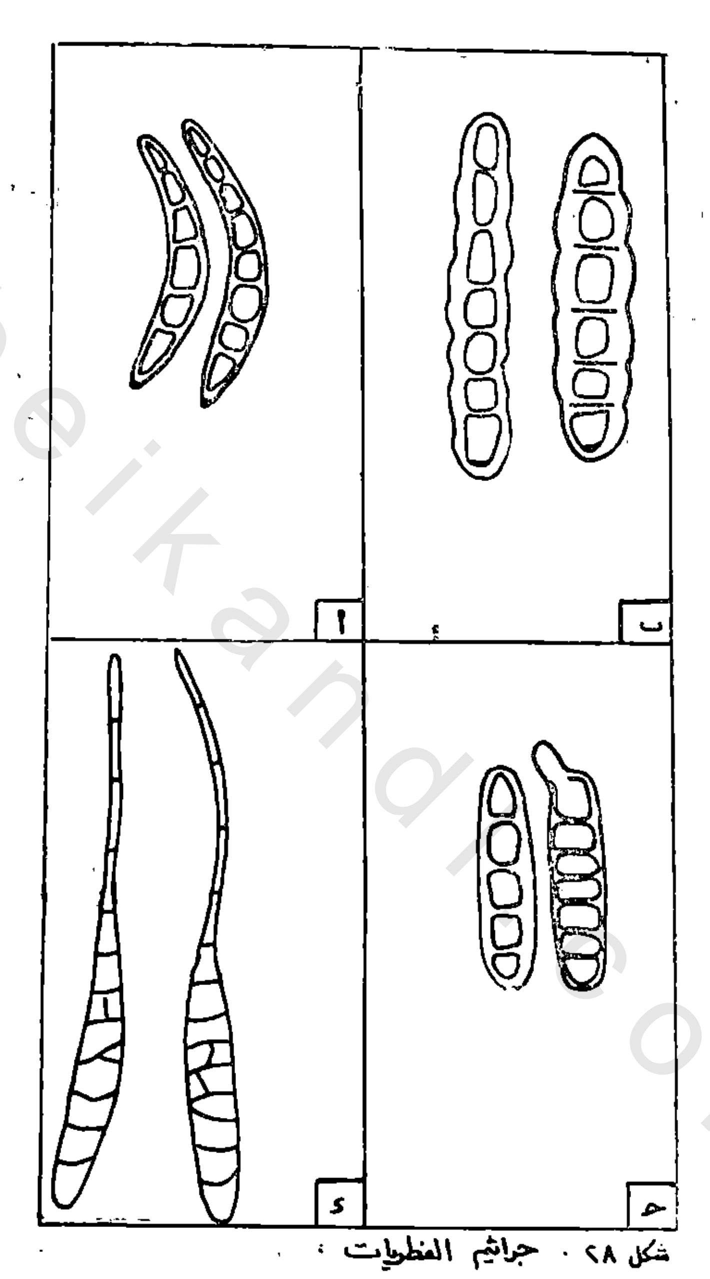
حضر كشطا من النمو الفطرى الظاهر على سطح الورقة المصابة ولاحظ الحوامل الكونيدية القصيرة ، والجراثيم الكونيدية ذات لون بنى زيتونى ، أسطوانية الشكل ، مقسمة الى ٣—٥ خلايا عادة مع عدم وجود انقباضات مقابل الحواجز الكاذبة (شكل ٢٨ج) •

يسمى الفطر فى طوره الكامل *Pyrenophora graminea*

اللفحة المبكرة فى الطماطم والبطاطس

مسبب من *Alternaria solani*

يظهر هذا المرض على الطماطم والبطاطس والفلفل والباذنجان •



شكل ٢٨ . جراثيم الفطريات :

Drechslera teres (ب) Drechslera oryzae (أ)

Alternaria solani (د) Drechslera graminea (جـ)

لاحظ البقع البنية ذات الحلقات الدائرية التى تظهر على الاوراق • قد تمتد الاصابة وتسبب تقرحات على أعناق الاوراق والساق • قد تصاب الثمار أيضا وتظهر الاعراض بشكل عفن أسود على هيئة حلقات أيضا قرب عنق الثمرة •

حضر قطاعا عرضيا فى ورقة طماطم يمر بمنطقة مصابة ولاحظ الحوامل الكونيدية القائمة التى تخرج من الثغور ويحمل الحامل الكونيدى جرثومة كونيدية مفردة كبيرة الحجم نسبيا مقسمة تقسيما طوليا وعرضيا وذات منقار طويل (شكل ٢٨ د) •

٣ ــ العائلة التيوبركيولارية

Form. Fam. Tuberulariaceae

تمتاز فطريات هذه العائلة بأن حواملها الكونيدية تخرج من وسادة هيفية Stroma تعرف باسم كويمة Sporodochium

ذبول الطماطم

مسبب من *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

افحص نباتات طماطم مصابة بالذبول ولاحظ الآتى :

١ ــ ظهور شحوب فى عروق الوريقات الخارجية ويتغير لونها الى اللون الاصفر •

٢ ــ انحناء أعناق الاوراق تدريجيا من أسفل النبات الى أعلى •

٣ ــ انحصار الاعراض على فرع واحد أو أكثر دون الافرع الاخرى

افحص القطاع العرضى المجهز لجذور أو ساق نبات طماطم مصاب ولاحظ وجود هيفات الفطر فى الاوعية الخشبية •

جهز تحضيرا من فطر *F. oxysporum f.sp. lycopersici* النامى على بيئة آجار البطاطس والدكستروز ولاحظ وجود ثلاث أنواع من الجراثيم وهى :

١ — جراثيم كونيدية صغيرة microcondia بيضية وحيدة الخلية غالبـــا •

٢ — جراثيم كونيدية كبيرة marcıoconidia هـــلالية الشـــكل وعديدة الخلايا •

٣ — جراثيم كلاميدية chlamydospores كروية الشكل تتكون فى طرف الهيفات أو بين خلايا الهيفا (شكل ٢٩ أ) •

ثانيا — صف فطريات كولوميسيتية

Cl. COELOMYCETES

رتبـــة سفيروبسيدات

Form. Or. Sphaeropsidales

تمتاز فطريات هذه الرتبة بحوامل كونيدية تتكون داخل أوعية دورقية الشكل تسمى الاوعية البكنيدية Pycnidia

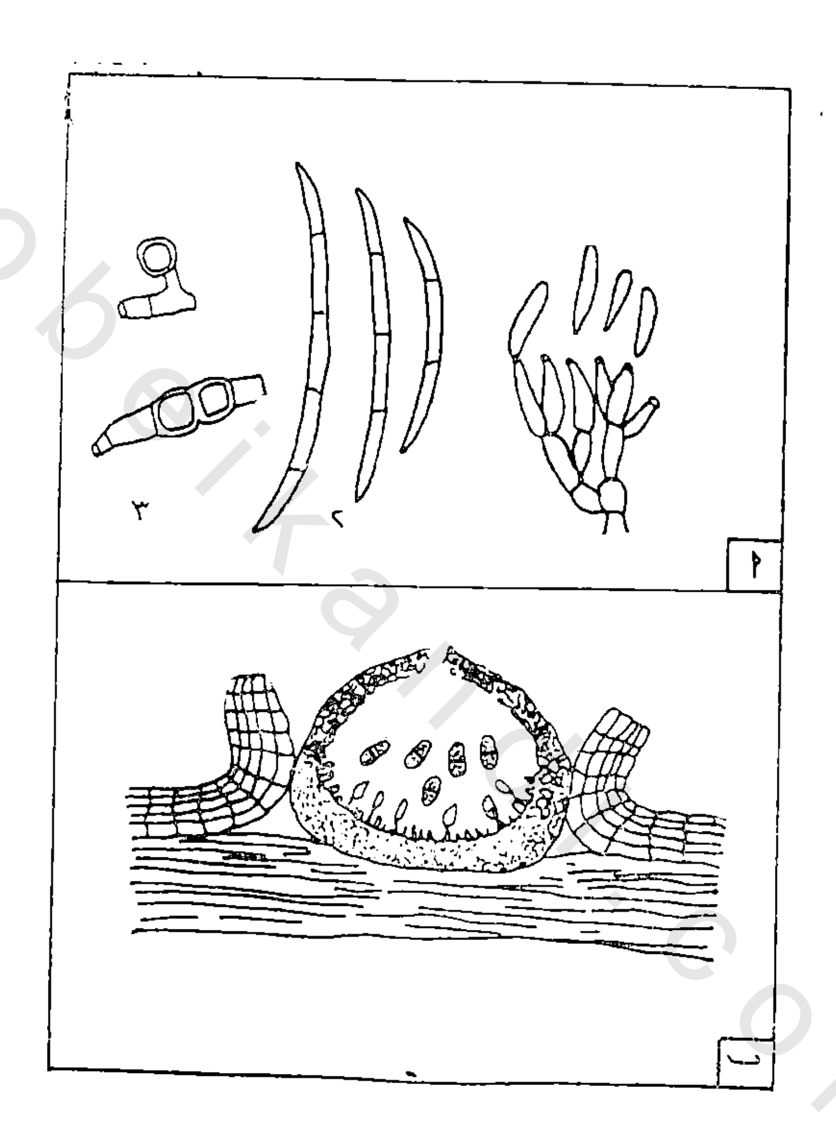
عفن الموز البوتريوديبلودى

مسبب من *Botryodiplodia theobromae*

افحص ثمار الموز المصابة ولاحظ أن المـــرض يظهـــر عادة فى الثمار التامة النضج أثناء الانضاج بعكس مرض عفن طرف السيجار الذى يظهر فى الاطوار المختلفة من النمو •

يسبب هذا العفن ليونة فى لب الثمرة المصابة واسوداد غلاف الثمرة وظهور أجسام صغيرة سوداء هى عبارة عن الاوعيـــة البكنيدية للفطـــر المسبب • لاحظ عدم وجود حد فاصل بين الانسجة المصـــابة والانســـجة السليمة بعكس مرض طرف السيجار •

جهز تحضيرا ميكروسكوبيا من الاوعية البكنيدية المنتشرة على سطح ثمرة موز مصابة • لاحـــظ شـــكل الوعاء البكنيدى ثم اضـــغط على غطاء الشريحة لانفجار غلاف الوعاء وخروج الجـــراثيم البكنيدية ذات اللون البنى ، البيضية الشكل والمكونة من خليتين ، أما الجراثيم غير تامة النضج فهى وحيدة الخلية وشفافة (شكل ٢٩ ب) •



شكل ٢٩ : (أ) فطر Fusarium oxysporum f.sp.vasinfectum

١ـ جراثيم كونيدية صغيرة

٢ـ جراثيم كونيدية كبيرة

٣ـ جراثيم كلاميدية

(ب) فطر Botryodiplodia sp.

ثالثا ــ صــف فطريات عقيمــة

Cl. AGONOMYCETES

رتبــة الفطــريات العقيمة

Form. Or. Agonomycetales
(Myeelia Sterilia)

فطريات هذه الرتبة لا تكون جراثيما على الاطلاق •

العفن الابيــض فى البصــل

مسبب من *Sclerotium cepivorum*

افحص نباتات البصل المصابة بالتعفن الابيض ولاحظ :

١ ــ اصفرار الاوراق وذبولها ابتداء من الاوراق العليا •

٢ ــ ظهور طبقة بيضاء من هيفات الفطر المسبب للمــرض يتخللها أجسام حجرية سوداء اللون •

العفن الفحمى فى الذرة

مسبب من *Sclerotium bataticola*

افحص النباتات المصابة ولاحــظ التفكك التام للحــزم الوعائيــة للسلاميات القريبة من سطح التربة وظهورها على هيئة خيوط تغطى بهيفات الفطر الرمادية اللون وأجسام حجرية سوداء • جهز تحضيرا من الفطــر النامى على بيئة آجار البطاطس والدكستروز ولاحظ انتشار الاجســام الحجرية السوداء الصغيرة الكروية الشكل •